



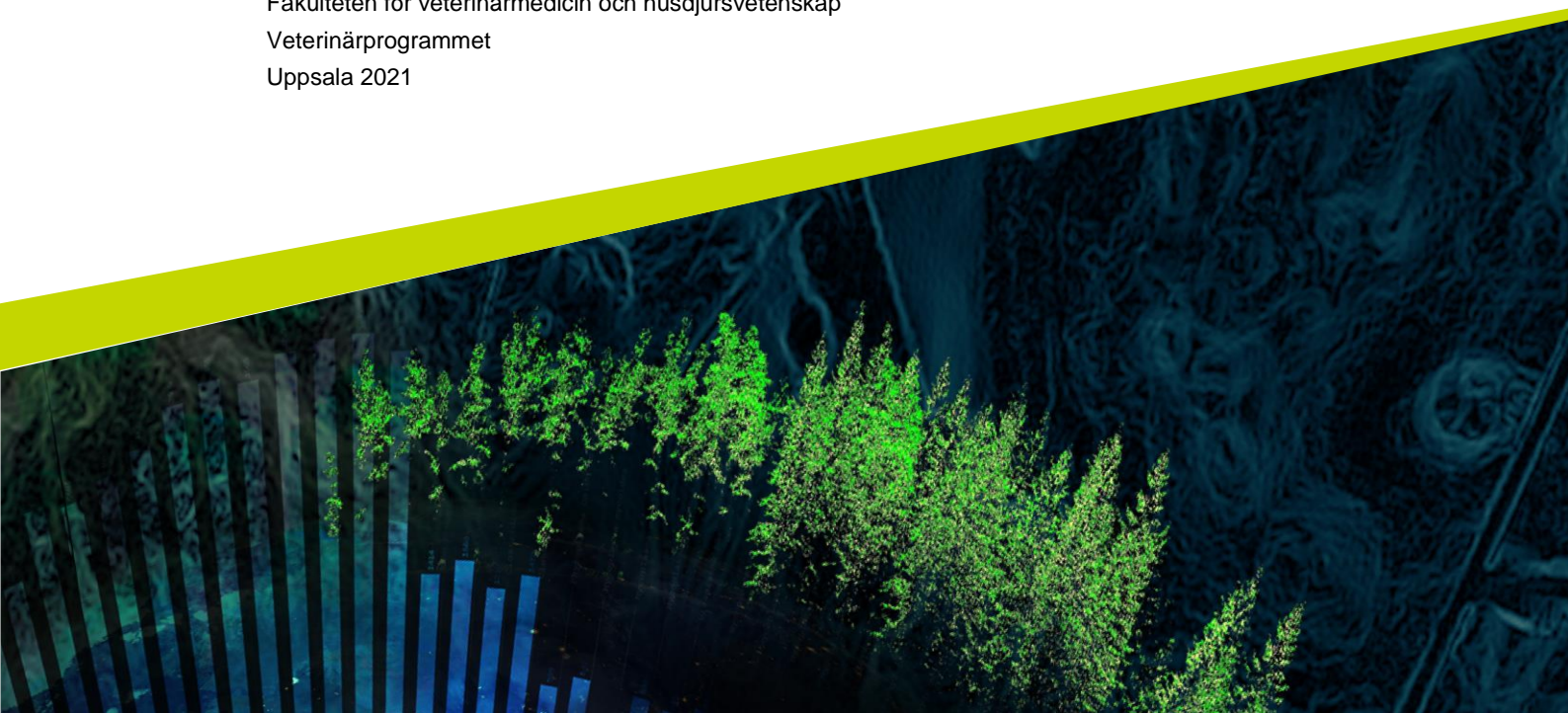
Effekter av fri digivning hos svenska mjölkkraskalvar

– avseende ansättning av kroppsfett och juvertillväxt under första levnadsmånaden

Effects of ad libitum suckling on body condition and mammogenesis in the first month of life in Swedish dairy calves

Erik Backman

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2021



Effekter av fri digivning hos svenska mjölkkraskalvar – avseende ansättning av kroppsfett och juvertillväxt under första levnads månaden

Effects of ad libitum suckling on body condition and mammogenesis in the first month of life in Swedish dairy calves

Erik Backman

Handledare: Hanna Eriksson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Examinator: Sigrid Agenäs, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Omfattning: 30 hp
Nivå och fördjupning: A2E
Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod: EX0869
Program/utbildning: Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2021

Nyckelord: kalv, tillväxt, hull, juverparenkym

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

☒ JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

☐ NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

I den här studien undersöktes kalvar som tilläts dia fritt från sina mammor, avseende hullutveckling och tillväxt av juverparenkym under den första månaden i livet. Detta eftersom det finns en oro att kalvar som får dia fritt blir överviktiga.

Försökskalvarna hölls inne i mjölkstallet tillsammans med sina mammor och med de andra försökskalvarna och deras mammor. Försökskalvarna jämfördes med en kontrollgrupp, som bestod av kalvar som separerats från sina mammor vid födseln och placerats i grupper om maximalt 5 kalvar per box. Kontrollkalvarna utfodrades med 9 liter mjölk per dag uppdelat på tre mål. Totalt inkluderades 34 kalvar i studien, varav 17 kalvar i försöksgruppen och 17 i kontrollgruppen. Samtliga kalvar hullundersöktes en gång i veckan under deras första levnadsmånad genom att mäta ryggfettstjockleken på vänster rumphalva med hjälp av ett ultraljud för att bestämma mängden subkutan fett. För 8 kvigkalvar ur försöksgruppen och 8 kvigkalvar i kontrollgruppen undersöktes även tillväxten av juverparenkymet en gång i veckan fram till en månads ålder.

Mellan vecka 1 och vecka 4 ökade försökskalvarnas ryggfettstjocklek i genomsnitt från $2,7 \pm 0,46$ mm till $3,12 \pm 0,42$ mm och för kontrollkalvarna från $2,65 \pm 0,27$ mm till $3,15 \pm 0,41$ mm. Vid analys av förändringen mellan vecka 1 och vecka 4 kunde ingen statistiskt signifikant skillnad påvisas mellan grupperna. När det gäller analysen av juverparenkymet noterades en stor variation i storlek mellan mätningarna. Linjär regression av data på juverfjärdedelarna, vilka sedan sammanställdes på juvernivå för att få ett viktat medelvärde, visade inte någon statistiskt säkerställd skillnad i juvertillväxt mellan försöks- och kontrollgrupp.

Skillnaden i ryggfettstjocklek mellan första och sista mätningen var relativt liten med ett genomsnitt på bara ca 0,5 mm för båda grupperna och den oro som ibland uttrycks för att kalvar som får dia fritt blir överviktiga, är inget som resultaten i den här studien tyder på. Detta bör dock utforskas vidare och framförallt följa kalvar under en längre tidsperiod för att fastställa om *ad libitum* digivning kan leda till övervikt senare under uppväxten. Variationen som sågs vid analys av juverparenkymets storlek talar för att mätmetoden kräver en tränad operatör, men med de åtgärder som vidtogs vid analysen av data är det dock osannolikt att mätosäkerheten påverkat i sådan grad att en signifikant skillnad mellan grupperna missats.

Nyckelord: kalv, tillväxt, hull, juverparenkym

Abstract

In this study, calves that were allowed to *ad libitum* suckling from their mothers were examined regarding the development of fat reserves in body tissue and the growth of the udder parenchyma during their first month of life. The reason for doing this was concerns that calves that are allowed to suckle freely become overweight and that this leads to lower milk production during first lactation. The test calves were kept in a group with their mothers, as well as with the other test calves and their mothers. These test calves were compared with a control group, which consisted of calves that were separated from their mothers at birth and placed in groups of a maximum of 5 calves per pen. The control calves were fed with 9 liters of milk per day divided into three meals. A total of 34 calves were included in the study, divided equally between the test group ($n = 17$) and the control group ($n = 17$). Fat reserves were estimated by determination of thickness of subcutaneous fat on the back and rump with ultrasound once a week during the first month of life. Eight heifer calves from the test group and eight from the control group were also examined regarding the growth of the udder parenchyma once a week until one month of age.

Between week 1 and week 4, the mean of the backfat thickness increased from 2.7 ± 0.46 mm to 3.12 ± 0.42 mm in the test group and from 2.65 ± 0.27 mm to 3.15 ± 0.41 mm in the control group. When analyzing the change between week 1 and week 4, no statistically significant difference could be detected between the groups. Regarding the analysis of the udder parenchyma, a large variation in size was noted between measurements and linear regression curves were performed on the udder quarters, which were then compiled at udder level to obtain a weighted mean. When analyzing the slope of these curves, a statistically significant difference in udder growth between test and control groups could not be demonstrated.

The difference in backfat thickness between the first and last measurement was relatively small with an average increase of only about 0.5 mm for both groups and the concern that is sometimes expressed that calves that are allowed to suckle freely will become overweight is not something that the results in this study indicates. However, this should be further investigated and follow calves for a longer period of time to determine whether *ad libitum* suckling can lead to obesity later in rearing. The variation seen in the analysis of the udder data suggests that the measurement method requires a trained operator, but with the measures taken in the analysis of the data, it is unlikely that the measurements uncertainty affected to such an extent that a significant difference between the groups was lost.

Keywords: calf, weight gain, body condition, mammary parenchyma

Innehållsförteckning

1. Inledning.....	9
2. Litteraturoversikt	10
2.1. Kalvens naturliga uppväxt	10
2.1.1. Kalvens uppväxt i dagens mjölkproduktion	11
2.2. Den unga kalvens tillväxt.....	12
2.3. Juvertillväxt hos unga kalvar	14
2.4. Prepubertal juvertillväxt	14
2.5. Uppskattning av vikt och energimobilisering	15
2.5.1. Levande vikt, vägning	15
2.5.2. Kroppsmått som markör för kroppsvikt	15
2.5.3. Hullbedömning	16
2.5.4. Ryggfettstjocklek.....	16
2.6. Ultraljudsundersökning av juvret	17
3. Material och metoder	19
3.1. Urval av djur	19
3.2. Gruppindelning	19
3.3. Skötselrutiner.....	20
3.3.1. Kontrollgruppen.....	20
3.3.2. Försöksgruppen	20
3.4. Ultraljudsundersökning	21
3.4.1. Hullundersökning	21
3.4.2. Juverundersökning.....	21
3.5. Behandling av data	22
3.5.1. Hullundersökning	22
3.5.2. Juverundersökning.....	23
3.6. Statistiska analyser:.....	25
3.6.1. Hullundersökning	25
3.6.2. Juverundersökning.....	25
4. Resultat.....	26
4.1. Hullundersökning	26
4.1.1. Hypotestestning	26

4.2.	Juверundersökning	27
4.2.1.	Hypotestestning:	28
4.3.	Resultat av vägning	28
5.	Diskussion.....	29
5.1.	Hullundersökning	29
5.2.	Juверundersökning	30
	Referenser.....	34
	Tack	38
	Populärvetenskaplig sammanfattning	39
	Bilaga 1.....	41
	Bilaga 2.....	43
	Bilaga 3.....	45

1. Inledning

Den naturliga uppväxten för en kalv där kalven får sin mjölk från modern och samtidigt utvecklar ett starkt fysiskt och socialt band med sin mamma och sin flock har med dagens uppfödningssatser i mjölkproduktioner förändrats. I dagens mjölkproduktioner separeras kalven från modern vanligen inom 24 timmar efter födseln (Beaver *et al.* 2019). Detta har man bland annat sett ha stora effekter på kalvens tillväxt (Flower & Weary 2001). Till och med när kalven inte tillåts dia från sin mamma, men ändå får vara tillsammans med henne har en ökad tillväxthastighet setts Krohn *et al.* (1999).

Tillväxten för den unga kalven är mycket viktig för den framtida förutsättningen att bli en hälsosam och välproducerande mjölkko (Kalvportalen 2019). En vanlig utfodringsstrategi har varit att begränsa kalvens mjölktillgång för att stimulera intaget av fast föda och på så sätt kunna avvänja kalven tidigt (Khan *et al.* 2011). Jämförelser har gjorts mellan kalvar som utfodrats med en begränsad mjölktillgång och kalvar som haft fri tillgång på mjölk och har visat att kalvar med fri tillgång växer mycket bättre (Appleby *et al.* 2001; Flower & Weary 2001; Jasper & Weary 2002), men en oro som uttrycks är om det också leder till övervikt hos kalvarna.

Det finns även studier som har visat att kalvar som tillväxer i hög hastighet före puberteten drabbas av en större fettansättning i juvret, vilket har associerats med en lägre mjölkproduktion i första laktationen (Sejrsen *et al.* 1982; Van Amburgh *et al.* 1998). Dessa studier har framförallt varit på kalvar efter avvänjning och få studier har gjorts på kalvar som fortsatt dricker mjölk. Överutfodring leder ofta till ökad ansättning av kroppsfett. Det är möjligt att fri tillgång på mjölk under diaperioden inte bara förbättrar kalvens tillväxt, utan också leder till en ökad mängd kroppsfett, vilket i sin tur eventuellt kan påverka juvertillväxten negativt även under mjölkperioden.

Studiens primära syfte är därför att undersöka om det finns skillnader i hullutvecklingen under den första levnads månaden mellan kalvar som går med modern och därmed har fri tillgång till mjölk jämfört med kalvar som får en begränsad mjölk-giva. Ett sekundärt studiesyfte är att utvärdera ifall det föreligger skillnader i juverutveckling under samma tidsperiod beroende på hållningssätt.

2. Litteraturöversikt

2.1. Kalvens naturliga uppväxt

Det sociala bandet mellan kon och sin kalv är mycket starkt och bildas tidigt. Forskning har visat att det sociala bandet knyts redan inom ett par timmar efter förlösning (Edwards & Broom 1982). Det finns till och med studier som talar för att så lite som 5 minuter räcker för att kon ska knyta an till sin kalv (Hudson & Mullord 1977). Vid återförening 12 timmar senare känner kon fortfarande igen sin kalv och efter 24 timmar efter separation visar kon fortsatt tecken på oro.

I studien av Reinhardt & Reinhardt (1981) undersöktes nötkreatursrasen sebu (*Bos taurus indicus*) avseende kalvars di- och avvänjningsbeteende. Kalven diar frekvent från sin mamma under stora delar av dygnet, men med kort duration. Mest frekvent diar kalven i soluppgången och på sena eftermiddagen. Kalven kan dia uppemot 48 gånger på ett dygn men med endast en totaltid på ca 38 minuter (Reinhardt & Reinhardt 1981). Liknande resultat visades i en mjölkbesättning där kalvarna skiljdes från kon men fick fri tillgång på mjölk ur en napphink. Kalvarna, som följdes fram till en månads ålder drack mellan 3-22 gånger per dag, däremot var endast 2-6 av dessa större mål som översteg 0,5 liter, med det största målet konsumerat på morgonen (Appleby *et al.* 2001).

Avvänjning är en gradvis process, som beror på den långsamma minskningen av producerad mjölk från modern, vilket leder till att kalvens intag av fast föda ökar (Martin 1984). Avvänjning av sebukalvar (*Bos taurus indicus*) sker vid 7-14 månaders ålder med ett genomsnitt på 10 månaders ålder, när de växer upp med sin mamma och tillåts dia fritt (Reinhardt & Reinhardt 1981). Nötkreaturen "Chillingham cattle", *Bos taurus*, i Chillingham Park i England lever fritt på ett inhägnat område av 134 hektar, med minimal mänsklig kontakt och har gjort detta sedan 1200-talet (Hall 1989). För domesticerade arter är denna flocks livsstil troligen det närmsta "naturliga" förhållande som går att komma. I denna flock avvänjs vanligen kalven inte förrän kon fött en ny kalv (Hall 1982).

Tidig separation har visat sig ha både kort- och långsiktiga effekter på beteende och stresshantering hos både kalven och kon (Wagner *et al.* 2015). Kalvar som växer upp tillsammans med sin mamma visar högre social aktivitet och färre stereotypa beteenden såsom onormalt sugbeteende.

2.1.1. Kalvens uppväxt i dagens mjölkproduktion

På det flesta mjölkgårdar idag separeras kalven från modern strax efter födseln och placeras i en kalvhydda eller kalvbox, vanligen med ögonkontakt med andra kalvar (Wormsbecher *et al.* 2017). Anledningen till den tidiga separationen är dels ekonomisk då mer mjölk från kon kan säljas, dels etisk eftersom det tros förhindra bildandet av ett maternellt band mellan kalven och modern, som progressivt blir svårare att bryta (Beaver *et al.* 2019).

Det förekommer även att kalvar hålls parvis eller i grupp. Fördelar med grupp-husering har rapporterats vara till exempel förbättrat immunsvär, lägre stressassocierade kardiovaskulära responser och mer sovtid (De Paula Vieira *et al.* 2010). En anledning till att man tidigare gått ifrån grupp-husering av kalvar har bland annat varit på grund av problematiken med ”cross sucking” samt att det är svårare att kontrollera att alla kalvar får i sig tillräckligt med mjölk på grund av konkurrens vid utfodring (Wormsbecher *et al.* 2017). ”Cross sucking” kan dock minskas genom att utfodra kalvarna med mer mjölk från napphinkar som tillfredsställer sugbehovet (Jung & Lidfors 2001). Konkurrens vid utfodring hos grupp-huserade kalvar undersöktes av von Keyserlingk *et al.* (2004). Där såg man att både tid spenderat vid spenen och dagligt mjölkintag minskade när färre spenar erbjöds och samtidigt ökade konkurrensassocierade beteenden mellan kalvarna (von Keyserlingk *et al.* 2004). Naturligt beteende för kalven är att när flödes hastigheten ur juvret/nappen avtar ökar kalvens stängande mot juvret/spenen, men det stimulerar även kalven att byta till en annan spene om detta finns tillgängligt (de Passillé 2001).

I en svensk studie av Hessle *et al.* (2004) undersöktes daglig utfodring av kalvar i svenska mjölkbesättningar. I 45 % av besättningarna utfodrades kalvarna med helmjölk och resten med pulvermjölk eller med en kombination av helmjölk och pulvermjölk. Kalvarna utfodrades med 4-6 liter råmjölk i 3-5 dagar och därefter med 4-6 liter helmjölk eller mjölkersättning uppdelat på två mål. Avvänjningen genomfördes i genomsnitt vid 9 veckors ålder och hos 77 % av gårdarna avvandes kalvarna abrupt från en dag till en annan (Hessle *et al.* 2004). Denna studie visar på att antalet mål och mängden erbjuden mjölk skiljer sig från om kalven själv får styra sitt intag (Appleby *et al.* 2001) och tiden för avvänjning skiljer sig kraftigt ifrån när moderdjuren styr avvänjningen (Reinhardt & Reinhardt 1981; Hall 1982). Studien från (Hessle *et al.* 2004) är idag relativt gammal och Gård och Djurhälsan rekommenderar idag 8-10 liter mjölk per dag uppdelat på tre mål för kalvar upp till en månads ålder och därefter en successiv reducering av mjölk fram tills avvänjningen vid 8 veckors ålder (Gård & Djurhälsan 2014).

2.2. Den unga kalvens tillväxt

Tillväxthastigheten under kalvens 2–3 första månader i livet är av stor vikt för kalvens framtida förutsättningar som mjölkproducerande ko. Kalvar bör tillväxa med ca ett kilo per dag under denna period, eftersom för varje 100g som kalven växer mer om dagen under mjölkperioden kan innebära en ökning på 100 kg mer i mjölkproduktion under första laktationen (Kalvportalen 2019).

I Sverige är det vanligt att kalvar utfodras med ca 4-6 liter mjölk om dagen uppdelat på två mål (Hessle *et al.* 2004). Även internationellt har detta varit en vanlig utfodringsstrategi där man utfodrat mjölk motsvarande ca 10 % av kroppsvikten uppdelat på två mål. Detta skulle innebära 2 liter morgon och kväll för en 40 kilos kalv (Jasper & Weary 2002), men kalvar som tilläts fri tillgång på mjölk konsumerar vanligen mer än dubbla denna mängd (Khan *et al.* 2011). I flera studier har man sett stora skillnader i kalvens tillväxt när jämförelse gjorts mellan konventionell kalvuppfödning på en begränsad mjölktillgång, jämfört med kalvar som fötts upp tillsammans med mamman eller på annat sätt haft fri tillgång på mjölk (Appleby *et al.* 2001; Flower & Weary 2001; Jasper & Weary 2002). Konventionell uppfödning med begränsad mjölgiva på omkring 4 liter är ett välfärdsproblem då det lämnar kalven hungrig, hämmar tillväxten, äventyrar hälsan och dessutom påverkar framtida mjölkproduktion negativt (Khan *et al.* 2011).

I en studie av Flower & Weary (2001) jämfördes effekten på kalvens tillväxt av separation från mamman vid en dags ålder med separation vid 14 dagars ålder. Vikten vid födseln var förhållandevis lika mellan kalvarna. De kalvar som separerades från modern under första levnadsdygnet utfodrades med mjölk motsvarande 10 % av kroppsvikten. Vid separationen vid 14 dagars ålder vägde kalvarna som gått tillsammans med modern $59,9 \pm 1,1$ kg i jämförelse med $46,9 \pm 1,0$ kg. Detta motsvarar en viktuppgång på 16,5 kg för kalvarna som tilläts dia, medan kalvarna som utfodrades med mjölk motsvarande 10 % av kroppsvikten endast gick upp 4,5 kg under samma period. Liknande resultat sågs i en studie av Jasper & Weary (2002) där fri tillgång på mjölk jämfördes med mjölk motsvarande 10 % av kroppsvikten hos nyfödda kalvar fram tills avvänjning, samtliga kalvar skiljdes från modern inom 24 timmar efter födseln. Vid 4 dagars ålder drack kalvarna med fri tillgång i genomsnitt 9 liter per dag, vilket var betydligt mer än gruppen med begränsad mjölktillgång, vilka i snitt fick 4,2 liter vid födseln och 5,7 liter för den gradvisa avvänjningen vid 35 dagars ålder. kalvarna med fri mjölktillgång vägde 10,5 kg mer vid 35 dagars ålder, vilket motsvarar en 63 % högre tillväxthastighet (Jasper & Weary 2002).

Den begränsade mjölkutfodringen i Jasper & Weary (2002) studie ledde däremot till en ökad konsumtion av fast föda motsvarande 6,11 kg kraftfoder och 0,98 kg hö före avvänjning, detta jämfört med kalvarna som kunde dricka mjölk fritt som hade

konsumerat 2,99 kg kraftfoder och 0,52 kg hö under samma period. Årtionden av forskning har fokuserat på utvecklandet av en utfodringsstrategi som tillåter en tidig avvänjning och en smidig övergång från flytande till fast föda, strategin har framförallt varit att minska mjölmängden (Khan *et al.* 2011). Den ökade konsumtionen av fast föda som ses vid begränsad mjölkutfodring tillgodoser dock inte för energiförlusten som den låga mjölmängden innebär och kalvarna växer därför sämre (Jasper & Weary 2002). Intaget av fast föda är viktigt för den unga mjölkdrinkande kalven, eftersom det stimulerar proliferation av våmmens mikrober och produktion av fria fettsyror, vilket initierar utvecklingen av våmmen (Suárez *et al.* 2006). Trots en obegränsad tillgång på mjölk börjar dock kalvar äta fast föda redan vid ca 2 veckors ålder (Khan *et al.* 2011). Khan *et al.* (2007) fann att en inledningsvis hög mjölmängd under kalvarnas mjölkperiod, som sedan gradvis reducerades före avvänjning ledde till ett ökat intag av fast föda. Förmagarna hos dessa kalvar var dessutom mer utvecklade jämfört med kalvar som utfodrats enligt konventionella metoder med en begränsad mjölmängd under hela mjölkperioden fram tills avvänjning.

Ett av orosmomenten med att utfodra kalvar med en större mjölgiva har varit den ökade risken för diarré. Appleby *et al.* (2001) följde kalvar från födseln fram till en månads ålder, som utfodrades antingen med mjölk motsvarande 10 % av kroppsvikten ur hinkar (kontrollgrupp) eller *ad libitum* tillgång med napp (försöksgrupp). Diarré noterades dagligen och definierades som en 3:a eller 4:a på skalan som utvecklats av Larson *et al.* (1977). Den enda vecka det sågs signifikant skillnad mellan grupperna var vecka tre då kalvarna som utfodrades med den begränsade mjölgivan hade mer diarré än kalvarna med *ad libitum* tillgång. Studien noterade också en stor variation i andel mål och mjölkintag i gruppen med *ad libitum* mjölktilgång med en konsumtion mellan 6,36 och 16,9 liter mjölk per dag, vilket svagt korrelerade med deras kroppsvikt. Försöksgruppen tillväxte i genomsnitt 0,85 kg / dag och kontrollgruppen 0,36 kg / dag (Appleby *et al.* 2001).

Bortsett från en ökad mjölkkonsumtion har man sett andra fördelar kopplat till tillväxt när kalvar får växa upp tillsammans med sin mamma t.ex. att kalvar som tillåts dia från sina mammor har signifikant högre nivåer av oxytocin jämfört med kalvar som utfodras i hinkar (Lupoli *et al.* 2001). En fysiologisk effekt av de ökade nivåerna av oxytocin hos kalvar kan vara att stimulera tillväxt. Krohn *et al.* (1999) undersökte tillväxthastigheten mellan kalvar som separerades från sin mamma direkt efter födseln jämfört med kalvar som separerades från sin mamma fem dagar efter födseln. Kalvarna som fick gå tillsammans med sin mamma i fem dagar tilläts inte dia, utan konsjuver täcktes med ett juvernät. Båda grupperna utfodrades med lika mycket mjölk och resultatet visade på att kalvarna som fick gå tillsammans med sin

mamma tillväxte med 533g/dag, vilket var signifikant högre än kalvarna som skiljdes från sin mamma vid födseln som enbart tillväxte med 266g/dag.

2.3. Juvertillväxt hos unga kalvar

Idag tror man att ett ökat intag av näringsämnen under de två första levnadsmånaderna inte hindrar tillväxten av juverparenkymet utan att det till och med kan gynna tillväxten (Akers *et al.* 2005). Hos kvigor yngre än 30 dagar är det svårt att upptäcka juverparenkymet på grund av dess ringa storlek som sträcker sig likt en smal sträng, och väger ca 150 mg/körtel. Vid 75 dagars ålder är parenkymet stort som en valnöt, som tydligt kan kännas och vid 90 dagars ålder kan juverkörteln väga så mycket som 10 g, vilket innebär en 60-faldig ökning i tillväxt (Akers *et al.* 2005). Detta skiljer sig markant från kroppstillväxten under samma period och visar på att juverparenkymet tillväxer i en högre hastighet än kroppsvikten hos kvigor i tidiga livet (Esselburn *et al.* 2015).

2.4. Prepubertal juvertillväxt

Hög tillväxt hos avvanda kvigor har i tidigare studier visats leda till en större ansamling av fett i juvret, vilket har associerats med en lägre mjölkproduktion i första laktationen (Bazeley *et al.* 2016). I en studie av Sejrsen *et al.* (1982) undersöktes dietens påverkan på juvertillväxten hos kvigor från ca 7 månaders ålder fram till puberteten. Försöksgruppen hade fri tillgång på foder och tillväxte i genomsnitt med 1218 g/dag, medan kontrollgruppen utfodrades mer restriktivt och tillväxte med ca 613 g/dag. Djuren slaktades när de vägde 320 kg och juvret undersöktes. Resultatet visade att totalvikten för juvret var högre för kvigorna på den frikostiga dieten. Detta berodde däremot inte på en ökad mängd körtelvävnad utan på en ökad ansamling av fettvävnad. När mängden körtelvävnad analyserades visade det sig att kvigorna som utfodrats med den restriktiva fodergivan hade ca 20–30 % mer körtelvävnad, med en genomsnittsvikt på 642 g jämfört med 495 g för kvigorna på den frikostiga dieten (Sejrsen *et al.* 1982). Flera studier har visat på liknande resultat. Van Amburgh *et al.* (1998) delade in kvigor med en startvikt på 90 kg i tre behandlingsgrupper med tänkta tillväxthastigheter på 0,6 kg/dag, 0,8 kg/dag och 1,0 kg/dag. Kvigorna inseminerades när de uppnått 340 kg och resultatet visade att kvigor som tillväxte med 1,0 kg/dag producerade ca 5 % mindre mjölk under sin första laktation i jämförelse med kvigorna som tillväxte med 0,6 kg/dag (Van Amburgh *et al.* 1998). Även Gardner *et al.* (1977) såg att kvigor med fri fodertillgång efter avvänjning producerade mindre mjölk under första laktationen jämfört med kvigor på en begränsad fodergiva.

Meyer *et al.* (2006) föreslog att det ökade energiintaget och därmed tillväxten hos kalvar inte direkt hindrar juvertillväxt utan att det istället är skillnaden i ålder vid mätningstillfället. Detta är ofta en artefakt i studier med kvigor som utfodras med olika mängd foder, eftersom riktpunkten för när mätningen ska genomföras vanligen är när djuret uppnått en viss vikt. Kvigorna som utfodras mer generöst når denna vikt tidigare och är alltså yngre vid mättillfället (Meyer *et al.* 2006). Gardner *et al.* (1977); Sejrsen *et al.* (1982); Van Amburgh *et al.* (1998) utgår ifrån vikter och inte faktiskt ålder när inseminering eller en viss mätning ska genomföras. I studien av Meyer *et al.* (2006) delades kalvar på 45 kg in i antingen kontrollgrupp med foder tillräckligt för att tillväxa 650 g per dag eller i en försöksgrupp som skulle tillväxa 950 g/dag. Kalvar avlivades var 50:e kg mellan 100–350 kg. Juverfettkudden var större hos kalvarna som tillväxte med 950 g/dag men juverparenkymet var mindre. När ålder inkluderades som en kovariat i analyserna var skillnaden i juverparenkym mellan de olika fodergrupperna däremot inte längre signifikant, utan ålder var den avgörande faktorn. Detta berodde på att kalvarna med den generösa foderivan var betydligt yngre vid uppnådd målvikt än kalvarna i kontrollgruppen (Meyer *et al.* 2006).

2.5. Uppskattning av vikt och energimobilisering

I skötsel av vuxna mjölkkor har hullbedömningar eller på engelska kallat body condition scoring (BCS) blivit viktigt för att upptäcka avvikelser på besättningsnivå (Schröder & Staufenbiel 2006). De flesta av dessa metoder baseras på att visuellt bedöma eller fysiskt beröra kon. Problem orsakade av att dessa metoder är subjektiva har rapporterats och alternativa metoder för att bestämma hull och förutspå negativ energibalans har därför utvecklats (Schröder & Staufenbiel 2006).

2.5.1. Levande vikt, vägning

Genom att väga djuren regelbundet kan förändringar i fett och protein för ett vuxet djur speglas. En nackdel vid vägning är dock att måttet inte säger något om den procentuella andel av vad som är fett, protein, vatten i kroppen med mera. Levande vikt påverkas också av om djuren nyligen ätit eller inte. Måttet har därför sina begränsningar när det gäller uppskattning av hull och energimobilisering (Schröder & Staufenbiel 2006).

2.5.2. Kroppsmått som markör för kroppsvikt

Olika kroppsmått studerades i relation till uppmätt kroppsvikt för att ta reda på om enkelt utförda mätningar kunde uppskatta kroppsvikten (Heinrichs *et al.* 1992). I studien mättes mankhöjd, Bröstomkrets (strax bakom bogen, vid hjärtat), kropps-

längd och höftbredd. Resultatet visade att bröstomkrets och höftbredd gav bäst uppskattning av den totala kroppsvikten, med ett R^2 värde på ca 0,95. Detta betyder att en god korrelation mellan måttet och kroppsvikten föreligger och kan därmed användas för att effektivt uppskatta kroppsvikt. Författarna framhåller dock att måttet ger begränsad information om djurets hull samt förändringar i protein- och energistatus (Heinrichs *et al.* 1992).

2.5.3. Hullbedömning

Hullbedömning som på engelska kallas Body condition scoring (BCS) är en subjektiv uppskattning av energireserver i form av subkutan fett hos ett djur (Roche *et al.* 2009). Metoden baseras på att genom yttre bedömning och palpation av olika strukturer uppskatta mängden fettreserver hos djuret. Det finns olika skalor, men gemensamt för alla är att den lägsta siffran indikerar utmärgling och den högsta siffran tyder på att kon lider av fetma (Roche *et al.*, 2009). På grund av subjektiviteten i BCS-bedömning har tabeller med bilder utvecklats för att definiera varje siffra på BCS-skalan (Ferguson *et al.* 1994). Domecq *et al.* (1995) validerade BCS genom att jämföra med ultraljudsmätningar av subkutan fett på länden, ovanför höftleden samt kring svansroten. Resultatet visade på en signifikant association mellan BCS och ultraljudsmätningarna och författarna konstaterade att BCS var en lika god metod på att uppskatta subkutan fett som mätningar med ett ultraljud. I en studie av Ferguson *et al.* (1994) undersöktes enigheten av BCS mellan olika observatörer. Resultatet visade att i 58 % var observatörerna eniga, men studien visade också på att metoden kräver träning för att bemästras, då en av observatörerna konsekvent avvek från övriga observatörers mätningar. Kristensen *et al.* (2006) fann i deras studie att tränad personal var överens i 83 % av fallen och dessutom kunde otränad personal efter en kort genomgång avsevärt förbättra sin mätförmåga.

2.5.4. Ryggfettstjocklek

Ryggfettstjocklek eller backfat thickness (BFT) är det subkutana fettet mellan huden och den djupa fascian, *fascia trunci profunda*, vilken ligger direkt ovanför *musculus gluteus* (Schröder & Staufenbiel 2006). Ryggfettets tjocklek bedöms enklast med ett ultraljud. Metoden har utvecklats och validerats till kroppens totala fettmängd (TBF). Relationen mellan BFT och TBF är i hög grad signifikant, 1 mm skillnad i BFT motsvarar ca 5 kg total kroppsfett (Schröder & Staufenbiel 2006). Ultraljudsproben läggs an mot huden och mäter ner till den djupa fascian, som i de flesta fall är tydligt synlig på ultraljudsbilden. Metoden är även icke invasiv, tidseffektiv och objektiv. Det ska dock tilläggas att tryck komprimerar fett och kan därmed ge falskt låga värden. På en vuxen ko i medelgott hull är ryggfettstjockleken ca 15–25 mm, varav hudens tjocklek är ca 5–6 mm, vilket innebär att det faktiska subkutana fettlagret är mätvärdet minus 5–6 mm (Schröder & Staufenbiel 2006). Repeterbarheten

av ultraljudsundersökning avseende ryggfettstjockleken undersöktes av Brethour (1992) på 217 vuxna nötkreatur. Korrelationen mellan två på varandra följande undersökningar var $r = 0,975$ med en genomsnittlig skillnad på 0,72 mm mellan undersökningarna. En större variation mellan mätningarna rapporterades med en ökad ryggfettstjocklek.

Domecq *et al.* (1995) undersökte båda sidorna av ländområdet, höftområdet och svansrotområdet med ett ultraljud för att uppskatta subkutan fettvävnad. Korrelationen mellan de olika mätplatserna undersöktes och den högsta korrelationen såg man på mätningen strax ovanför höger och vänster höftled med ett r^2 -värde på 0,86. Att kombinera flera undersökningsplatser förbättrade inte R^2 -värdet för någon modell, vilket antyder att en undersökningsplats är tillräckligt (Domecq *et al.*, 1995). Mätpunkten ovanför höftleden har mer subkutan fett än övriga mätpunkter som till exempel den över 12:e revbenet och därför kan bakdelen vara mer lämplig vid undersökning av smalare individer, för att det då blir lättare att upptäcka skillnader (Greiner *et al.*, 2003). Denna mätplats lokaliseras ca halvvägs mellan *tuber coxae* och *tuber ischia* samt ca 2-3 cm ovanför *trochanter major* på femur på en vuxen ko (Schröder & Staufenbiel 2006).

2.6. Ultraljudsundersökning av juvret

Undersökning med ultraljud ger en tvådimensionell realtidsbild i en varierande gråskala (Nishimura *et al.* 2011). Vid undersökning av juvret med ultraljud ses juverparenkymet som ett mörkt (hypoechoiskt) område och proben anläggs från djurets ventrala sida, med spenen som ett riktmärke för att leta efter juverparenkymet (Nishimura *et al.* 2011; Esselburn *et al.* 2015). Undersökningen kan utföras både stående (Nishimura *et al.* 2011) eller liggande (Esselburn *et al.* 2015).

Esselburn *et al.*, (2015) undersökte juvertillväxten hos 24 kvigor från födseln fram till två månaders ålder med hjälp av ultraljud. Kvigorna delades in i tre grupper som utfodrades med olika mjölkersättning, vilka skiljde sig åt i mängden fett de innehöll. Resultatet visade att ingen skillnad sågs mellan dieterna. Däremot tillväxte juverparenkymet för samtliga grupper från ca $6,6 \pm 3,2 \text{ mm}^2$ per körtel vid födseln till $42,1 \pm 2,5 \text{ mm}^2$ vid 2 månaders ålder. Kvigorna avlivades när de var 8 veckor gamla och juvret plockades ut för att bestämma mängden faktisk juvervävnad. I studien undersöktes även palpation scoring ($r = 0,63$) som innebar en manuell palpering av juvervävnaden, eftersom juverparenkymet går att känna som en hårdare struktur än den omkringliggande fettvävnaden. En 6-gradig skala användes där en 1:a innebar liten och trådlik och en 6:a betydde att körteln var större än en mandel i storlek.

Även spenlängd mättes ($r = 0,34$) i relation till juverparenkymet, ultraljudsundersökning hade högst r -värde och var därför bäst på att uppskatta mängden juverparenkym ($r = 0,74$) (Esselburn *et al.* 2015).

Vidare undersökte Furini *et al.* (2018) om mängden torrs substans i mjölken påverkade juverkörtelns tillväxt mellan 5 och 11 veckor ålder. Detta undersöktes genom att tillsätta mjölkersättningspulver i mjölken. Resultatet visade att en ökad mängd torrs substans ledde till högre kroppsvikt hos kvigorna men att det inte påverkade juverparenkymets tillväxt eller deposition av fettvävnad i juvret. Oberoende av dieten var vid 5 veckors ålder juverparenkymet $11,4 \pm 4,6 \text{ mm}^2$ stort, vilket ökade till $28,8 \pm 9,3 \text{ mm}^2$ vid 8 veckors ålder, följt av $40,9 \pm 20,6 \text{ mm}^2$ vid 11 veckors ålder (Furini *et al.* 2018).

3. Material och metoder

3.1. Urval av djur

Försöket utfördes på Lövsta vid SLU:s forskningscentrum för lantbrukens djur, under det etiska tillståndet 5.8.18-06784/2020. Studien omfattade kor och kvigor som kalvade mellan den 1/9 till den 15/10 under hösten 2020, samt deras kalvar. Totalt kalvade 40 djur under perioden, varav 25 var av rasen svensk rödbrokig boskap (SRB) och 15 var av rasen svensk holstein (SH). Totalt kalvade 21 stycken av djuren för första gången.

I försöket inkluderades 36 kalvar jämt fördelade i två grupper. I försöksgruppen fick kalven gå kvar med mamman inne i mjölkstallet, medan kontrollkalvarna skiljdes åt från modern vid födseln. Två kalvar i försöksgruppen utgick ur försöket, en SRB-kviga vars mamma avled under behandlingen av en *E. coli*-mastit och en SH-kviga som avlivades på grund av svår hälta.

3.2. Gruppindelning

Kalvarna delades in i försöks- eller kontrollgrupp baserat på födelsedatum, kön och ras. Varannan född kvigkalv placerades i försöksgruppen respektive kontrollgruppen, tjurkalvarna sorterades till respektive grupper på samma sätt. Vid behov förändrades fördelningsordningen så att andelen SRB och SH-kalvar balanserades mellan grupperna. Slutlig könsfördelning blev 12 kvigor och 7 tjurar i varje grupp, med rasfördelningen 12 SRB och 7 SH i respektive grupp.

De fyra förstfödda kalvarna användes för att lära sig ultraljudsmetodiken för hull- och juverbedömning, och dessa exkluderades därför ur studien. Dessa bestod av en SH-kviga och en SRB-kviga i försöksgruppen, samt en SRB-tjur och en SH-kviga i kontrollgruppen. Tjurkalven användes för att verifiera att det var juvervävnad som hittades på kvigorna vid undersökningen, då denna vävnad inte gick att återfinna på tjurkalven med ultraljud.

Hullutvecklingen under de första 4 levnadsveckorna undersöktes på samtliga övriga kalvar ($n = 34$). Juverundersökningarna var tidskrävande, så baserat på provstorlek i tidigare studier selekterades 8 kvigkalvar i försöks- och 8 kvigkalvar i kontrollgruppen ut för denna undersökning. Initialt selekterades 5 stycken SRB och 3 stycken SH kvigkalvar i båda grupperna. En av SH-kvigorna i försöksgruppen avlivades av djurskyddsskäl och ersattes med en SRB-kviga född senare under inkalvningsperioden.

3.3. Skötselrutiner

3.3.1. Kontrollgruppen

Kontrollkalvarna separerades från sin mamma i kalvningsstallet inom några timmar efter födseln och placerades i ensambox. Kalvarna erbjöds 2,5-3 liter råmjölk vid första målet. Råmjölken från modern kontrollerades så att den hade ett BRIX-värde >22%, om undermålig råmjölk, tinades fryst råmjölk av god kvalitet. Råmjölksperioden bestod av sex mål (två per dag), med råmjölk och övergångsmjölk. I ensamboxen befann sig kalvarna i minst två dagar och som mest 8 dagar. Detta berodde på att ingen kalv placerades ensam i en gruppbox och därför fick den förstfödde av kalvarna vänta in tills en annan kalv blivit tillräckligt gammal. Från ensambox flyttades kontrollkalvarna till gruppboxar med totalt fem kalvar per grupp. Kalvarna planerades att gå ihop fram tills fyra månaders ålder. Kalvarna utfodrades med napphinkar och erbjöds 9 liter mjölk per dag uppdelat på tre mål vid de ungefärliga klockslagen 07.00, 13.00 och 18.00. Vid 6 veckors ålder minskades mjölkgiven till 6 liter per dag, med 2 liter erbjudet vid varje mål, vid 8 veckors ålder till 4 liter per dag med 2 liter erbjudet på 2 mål, vid 9 veckor till 2 liter per dag med 1 liter per mål, samt vid 10 veckors ålder avslutades mjölkutfodringen. Kalvarna hade under hela perioden fri tillgång till hö och ensilage i krubba samt kraftfoder från en kraftfoderautomat. Kalvarna avhornades vid två till tre veckors ålder och vägdes inför detta ingrepp för att uppskatta hur mycket anestesimedel som kalven behövde.

3.3.2. Försöksgruppen

Ko-kalvparen stannade tillsammans i en kalvningsbox fram tills efter 6:e mjölkningen, alltså i ca 3 dagar. Detta var till för att skapa en relation mellan ko och kalv före de släpptes ut i mjölkningseenheten. Mjölkningseenheten var ett Voluntary Milking System (VMS) av märket DeLaval. I VMS:en hade korna tillgång till hela ytan, där de kunde vila samt äta grov- och kraftfoder och för att komma från grovfoderavdelningen till liggplatserna behövdes mjölkningsroboten passeras. Denna del av VMS:en kom kalvarna inte åt. Kalvarna hade däremot tillgång till en kalvgömma, vilken korna inte hade tillgång till. I kalvgömman kunde kalvarna både leka och vila, men de hade också fri tillgång på hö och ensilage ur krubba, kraftfoder från kraftfoderstation, samt vatten från vattenkoppar. Kalvarna planerades att stanna kvar i VMS:en fram tills ca 3-4 månaders ålder och vid en vikt av omkring 200 kg. Kalvarna avhornades vid två till tre veckors ålder och vägdes inför detta ingrepp för att uppskatta hur mycket anestesimedel som kalven behövde.

3.4. Ultraljudsundersökning

Kalvarna undersöktes vid 4 tillfällen. Ålder för kalvarna vid första mättillfället skiljde sig något, där den yngsta var 1 dag gammal och den äldsta 11 dagar gammal. 6 av kalvarna i försöksgruppen var vid första hullundersökningen äldre än en vecka och 3 av kalvarna var vid första juverundersökningen äldre än en vecka. Detta berodde på att av arbetsmiljöskäl gick det inte att undersöka kalvarna när de gick tillsammans med modern i kalvningsbox (kalvens 3 första levnadsdygn) och undersökningen fick därför skjutas upp till nästa vecka. Mätningarna skedde varje måndag fram tills fyra mätningar utförts för alla kalvar. Vid ett mättillfälle fick undersökningen skjutas upp tre dagar. Denna undersökning utfördes av en annan operatör, som tränades vid samma tillfälle som ordinarie operatör. Den ersättande operatören hullundersökte 14 kalvar i kontrollgruppen och 12 i försöksgruppen, varav fyra kalvar i både försöks- och kontrollgrupp undersöktes för första gången. En kalv i försöksgruppen och tre kalvar i kontrollgruppen hullundersöktes för sista gången. Dessutom juverundersökte denna operatör 8 kalvar i kontrollgruppen och 7 kalvar i försöksgruppen. Av dessa kalvar undersöktes 2 av försökskalvarna för första gången, samt 2 av kontrollkalvarna och 1 av försökskalvarna för sista gången. En av kalvarna i kontrollgruppen blev allvarligt sjuk vid tre veckors ålder och sista mätningen gick därför inte att utföra, utan sköts upp en hel vecka.

3.4.1. Hullundersökning

För att underlätta undersökningen så fångas kalven in och leds in en kalvtransportvagn. För att minska bredden i kalvtransporten och minska kalvens rörlighet fanns möjligheten att tillsätta cellplastskivor täckta med sopsäckar för att möjliggöra rengöring. När kalven var på plats rakades vänster sidas bäckenhalva. Undersökningen utfördes med ett realtidsultraljud av märket GE Healthcare med en 35mm linjär prob och med en frekvens på 12 MHz. Djupet på ultraljudsbilden ställdes in på 2 cm. För att uppnå god sonisk kontakt användes en vattenbaserad ultraljudsgel. Proben anlades med ett lätt tryck, detta för att förhindra komprimering av vävnaden vilket kunnat ge ett falskt lågt mätvärde. Proben positionerades i vertikal riktning, vinkelrätt mot gluteusmuskulaturen på en tänkt linje mellan *tuber coxae* och *tuber ischia*, samt strax bakom och ca 2-3 cm ovanför *trochanter major*. Uppskattad undersökningstid (inklusive infångning) var ca 2-5 minuter per kalv.

3.4.2. Juverundersökning

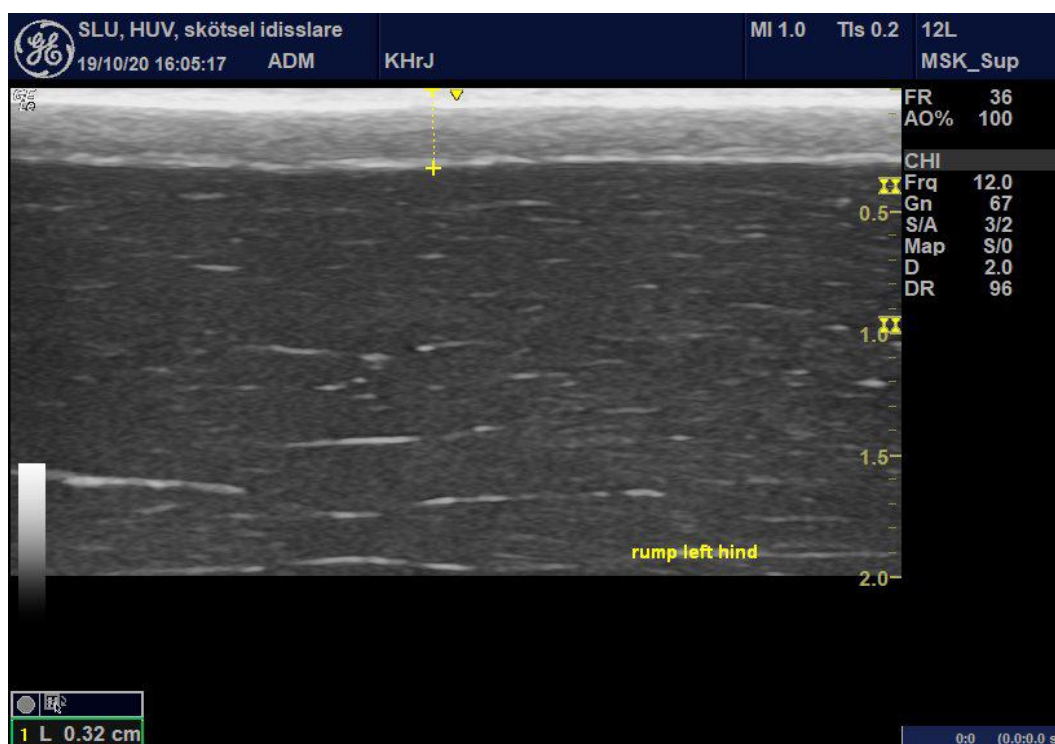
För de kalvar som juverundersöktes, utfördes ultraljud av juvret alltid direkt efter hullundersökningen. Kalven leddes ut ur kalvtransporten och med hjälp av två medhjälpare vältes kalven ner på sin högra sida på en cellplastskiva. För att hålla fast kalven krävdes två medhjälpare varav den ena höll i frambenen och huvudet och

den andra höll bakbenen. Totalt krävdes tre personer för att genomföra undersökningen. När kalven låg stilla rakades området för juvret och längden på spenarna mättes med en linjal i cm. Därefter utfördes ultraljudsundersökningen av juverfjärdedelarna, alltid i ordningen vänster fram, vänster bak, höger fram samt höger bak. Proben positionerades direkt på juverfjärdedelens spene så att den vek sig i sagittalplan. Proben och spenen positionerades på ett sådant sätt så att spenen alltid var riktad till höger på ultraljudsskärmen. Spenen kunde på så sätt användas som ett biologiskt riktmärke för att leta efter juverfjärdedelen. Juverparenkymet syntes som ett hypoechoiskt område i anslutning till spenen, positionen på proben ändrades tills juvervävnaden syntes tydligt. När den största mängden hypoechoisk vävnad syntes på skärmen så frystes bilden. Ultraljudet hade möjlighet att backa 30 sekunder bak i tiden, vilket användes för att selektera en bildruta med god skärpa där juverparenkymet var klart synligt. Önskad bild sparades kodat för att utvärderas vid senare tillfälle.

3.5. Behandling av data

3.5.1. Hullundersökning

För mätningen av ryggfettstjockleken användes ultraljudets egen mätfunktion (se Figur 1) och samtliga bilder mättes av samma operatör, som också utfört majoriteten av ultraljudsundersökningarna. Bilderna var kodade och operatören hade därför inte kännedom om kalven tillhörde försöks- eller kontrollgruppen. Mätningarna utfördes genom att en linje drogs mellan toppen av ultraljudsbilden ner till den djupa fascian. För två av bilderna sågs tydligt ultraljudsgel i toppen av ultraljudsbilden och dessa två bilder mättes därför från där huden bedömdes börja och inte från toppen av bilden. Linjen drogs mitt i bilden så nära mittpilen på bilden som möjligt för att probens tryck skulle bli så likvärdigt som möjligt mellan mätningarna samt för att bildkvalitén som regel var bäst i detta område. I de fall djupa fascian var svår att urskilja mitt i bilden valdes en plats ut på ultraljudsbilden så nära centrum av bilden som möjligt där man såg den djupa fascian. Mätdata lagrades i ett excelark och omvandlades från cm till mm. När alla fyra mätningar för varje kalv hade dokumenterats i excelarket fick operatören tillgång till kodlistan och mätvärdena kunde därmed delas in i försöks- respektive kontrollgrupp.



Figur 1. Bild av ryggfettstjockleken. Den gula linjen mäter tjockleken och resultatet ses i nedre vänstra hörnet.

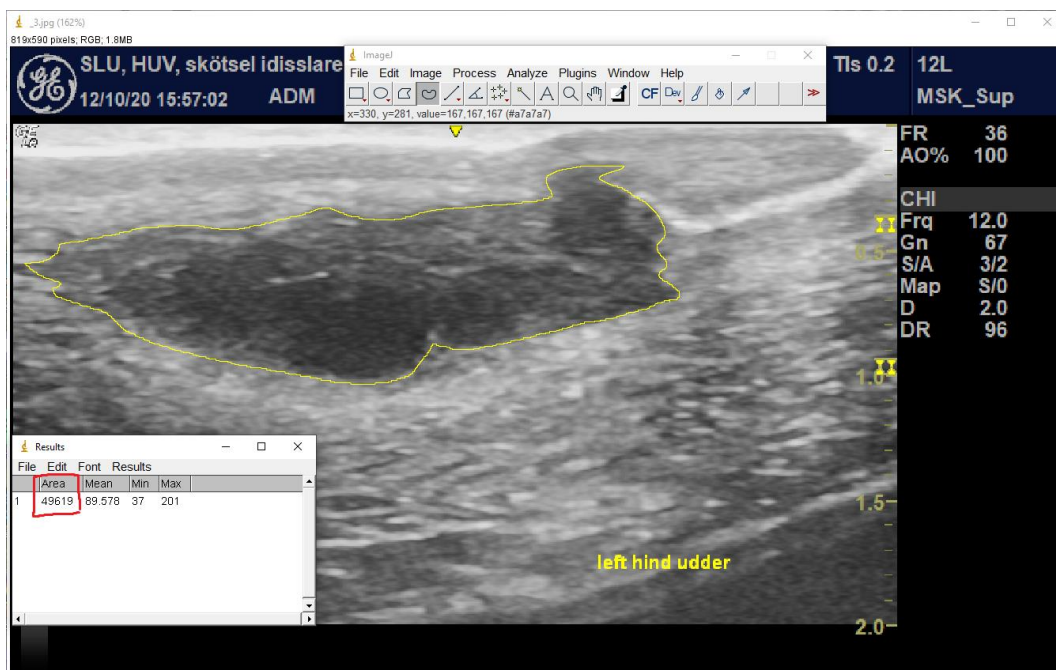
3.5.2. Juverundersökning

När samtliga juverundersökningar var gjorda överfördes de kodade bilderna från ultraljudets hårddisk till ett USB-minne genom ultraljudets "quick-save" funktion. Djupet på bilderna var 2,0 cm, men vid ett litet antal av bilderna hade ultraljudsoperatören missat att ändra djupet före undersökning och därmed hade ett fåtal bilder ett djup på 2,5 cm istället. Däremot var längden på bilden inte känd i något av fallen och därför mättes ett urval av bilderna med ultraljudets egen mätfunktion, vilket i samtliga fall resulterade i ett värde på 3,53 cm. På så sätt var det möjligt att räkna ut den verkliga arean av hela bilden; $3,53 \text{ cm} \times 2,0 \text{ cm}$ eller $3,53 \text{ cm} \times 2,5 \text{ cm} = 7,06 \text{ cm}^2$ respektive $8,825 \text{ cm}^2$. För att fastställa att bilden var skalenlig i både längd och djupled användes ultraljudets egen mätfunktion för att mäta 1 cm, längden av denna mättes sedan med en verklig linjal och resulterade i båda fallen en längd på 5,8 cm. Bilderna överfördes sedan från USB-minnet till en stationär dator och öppnades med programmet ImageJ. I ImageJ användes rektangelfunktionen för att rita en rektangel runt ultraljudsbilden och genom programmets "measure" funktion kunde antalet pixlar i det omringade området bestämmas och därmed var bildens totala antal pixlar känd. Ultraljudsbilden utlinjerades med rektangelfunktionen ett tiotal gånger och för att bestämma den mest exakta uppskattningen och därmed arean (i antal pixlar) zoomades bilden in för att se vilket av pixelvärdena som bäst följde bildens utlinjeringar. Detta utfördes för både bilder med djup 2 cm och bilder

med djup 2,5 cm och resulterade i olika värden, som fick tas hänsyn till vid senare beräkningar. För att sedan ta reda på juverkörteln storlek användes ImageJs funktion "free-hand tracer" för att på frihand rita längs kanterna av de hypoechoiska område som bedömts vara körtelvävnad och programmet beräknade arean av området som ritats (se Figur 2). Därefter dividerades antalet pixlar i det ritade området med antalet totala pixlar för bilden och eftersom den verkliga arean av bilden var känd multiplicerades kvoten med den verkliga arean för att få ut juverkörteln area.

1: $\text{pixlar för juverkörteln} \div \text{bildens totala antal pixlar} = \text{kvot}$

2: $\text{kvot} \times \text{verkliga arean (7,06 cm}^2 \text{ alt 8,825 cm}^2) = \text{juverkörteln area.}$



Figur 2. Bild från juverundersökning öppnad i ImageJ. Juverkörteln utlinjeras av den gula linjen. I nedre vänstra hörnet ses arean i pixlar av det utlinjerade området i den röda rektangeln.

Utfallet av ultraljudsundersökningen av juvret påverkades av ett antal yttre faktorer, såsom vilken operatör som utförde undersökningen, hur samarbetsvilliga kalvarna var efter de lagts ner på sidan, anatomisk tillgänglighet av området, samt det antal djur som skulle undersökas inom ett begränsat tidsrum. På grund av dessa faktorer var osäkerheten runt det uppmätta värdet av juverytan större än det för ryggefettstjocklek. Faktorerna varierade mellan undersökstillfällena på ett slumpartat vis för båda grupperna, vilket minskar risken för systematiserade skillnader i felmätningarna. För att minska effekterna av individuella felmätningar uppskattades förändringen av juverytan genom att utföra linjära regressionsmodeller per kalv och använda lutningen av modellerna som värde för juverytans förändring. Juverfjärdelsdata summerades till juverdata för att undvika flera värden per kalv. Ett värde

på 10,0 på lutningen innebär att mellan varje mättillfälle uppskattas juverkörteln totalt ha ökat med 10,0 mm², vilket efter fyra mätningar resulterar i en total ökning på 30,0 mm².

3.6. Statistiska analyser:

3.6.1. Hullundersökning

För att bedöma hur mycket subkutan fett som kalvarna lade på sig under studien räknades skillnaden mellan mätvärdet för vecka 1 och vecka 4 ut för varje kalv i både kontroll och försöksgrupp. Dessa värden användes sedan i ett Welch's T-test med en vald signifikansnivå på $\alpha = 0,05$ för att jämföra om det förelåg en skillnad i utvecklandet av subkutan fettansättning mellan grupperna.

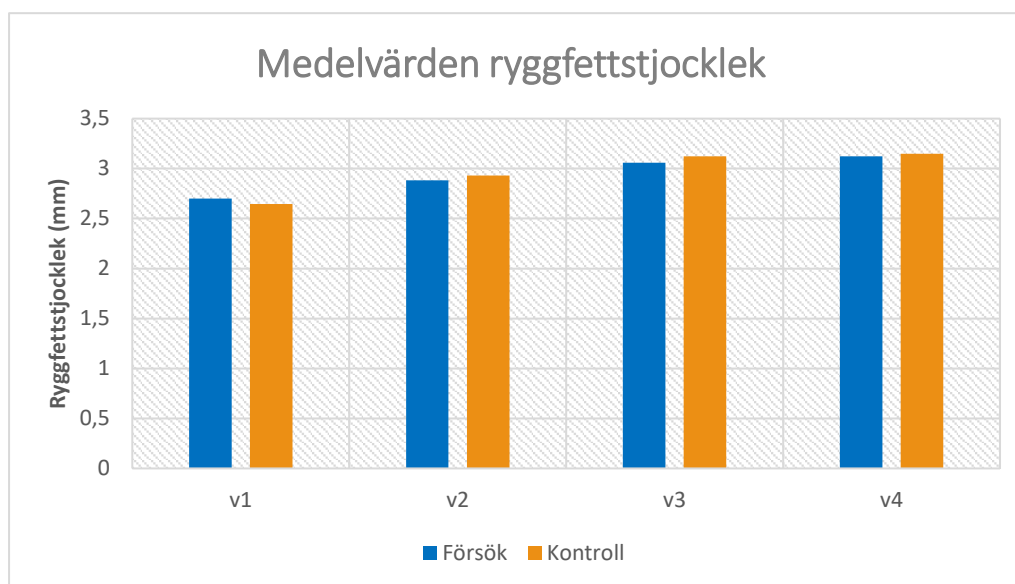
3.6.2. Juverundersökning

För att analysera om det förelåg en skillnad i juvertillväxt användes kalvarnas lutningar från den linjära regressionskurvan i ett Welch's T-test med en signifikansnivå på $\alpha = 0,05$ valdes.

4. Resultat

4.1. Hullundersökning

Vid kalvarnas första mättillfälle av ryggfettstjockleken hade försöksgruppen ett medelvärde på $2,7 \pm 0,46$ (SD) mm och kalvarna i kontrollgruppen hade ett medelvärde på $2,65 \pm 0,27$ mm. I båda grupperna sågs en veckovis ökning i tjockleken från vecka 1 till vecka 4. Vecka 4 var ryggfettstjockleken i medelvärde $3,12 \pm 0,42$ mm i försöksgruppen och $3,15 \pm 0,41$ mm i kontrollgruppen (Figur 3).

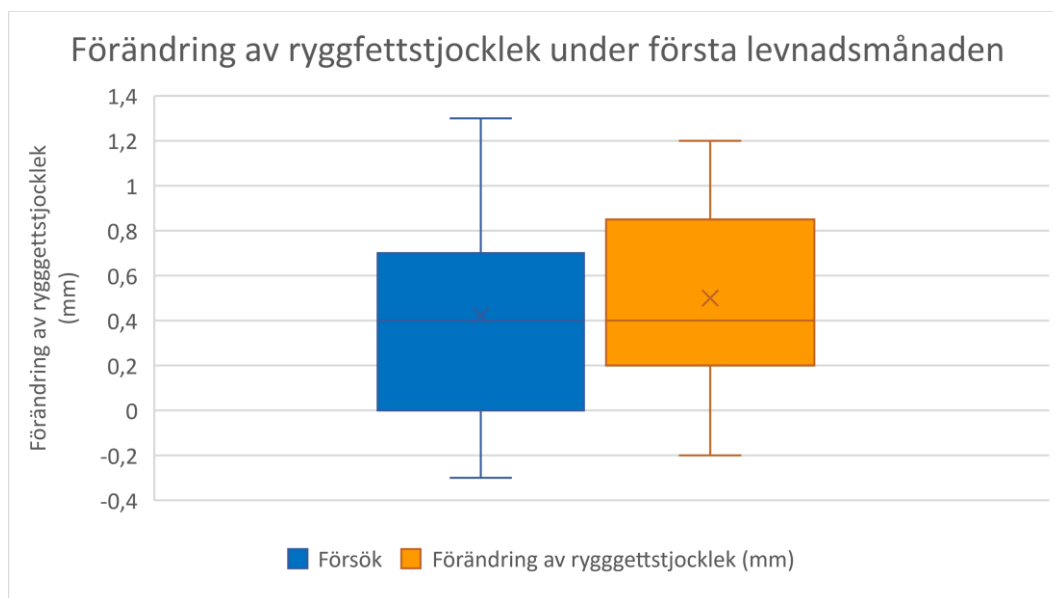


Figur 3. Medelvärde för ryggfettets tjocklek i millimeter från första till fjärde levnadsveckan i försöksgruppen ($n = 17$; kalvar som grupphållits tillsammans med moderdjuren) och kontrollgruppen ($n = 17$; kalvar som hållits i mindre grupper separat från moderdjuren).

Vid mätning vecka 4 hade 12 av 17 kalvar i försöksgruppen ökat i ryggfettstjocklek med värden mellan 0,2–1,3 mm motsvarande en ökning med 7,1–72,2 %, 2 av kalvarna hade minskat i ryggfettstjocklek med –0,3 respektive –0,1 mm och för tre av kalvarna var värdena oförändrade. I kontrollgruppen hade 15 av 17 kalvar ökat i ryggfettstjocklek med 0,1–1,2 mm motsvarande en ökning med 3,3–52,2 % en kalv hade minskat sin ryggfettstjocklek med –0,2 mm och för en kalv var värdena oförändrade (se Figur 4).

4.1.1. Hypotestestning

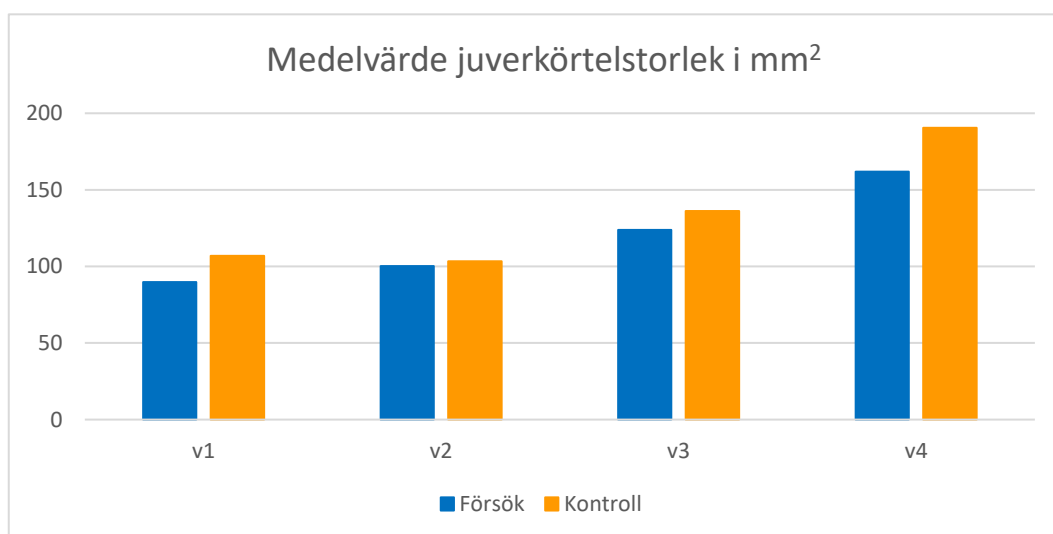
Inga statistiskt signifikanta skillnader iaktogs i förändring av ryggfettstjocklek mellan grupperna $t(31) = 0,61$.



Figur 4. Förändring i subkutan fettansättning mellan första och fjärde levnadsveckan i mm, beroende på grupptillhörighet. Försökskalvarna ($n = 17$) låg förändringen mellan -0,3 till 1,3 mm och för kontrollkalvarna ($n = 17$) låg förändringen mellan -0,2 till 1,2 mm.

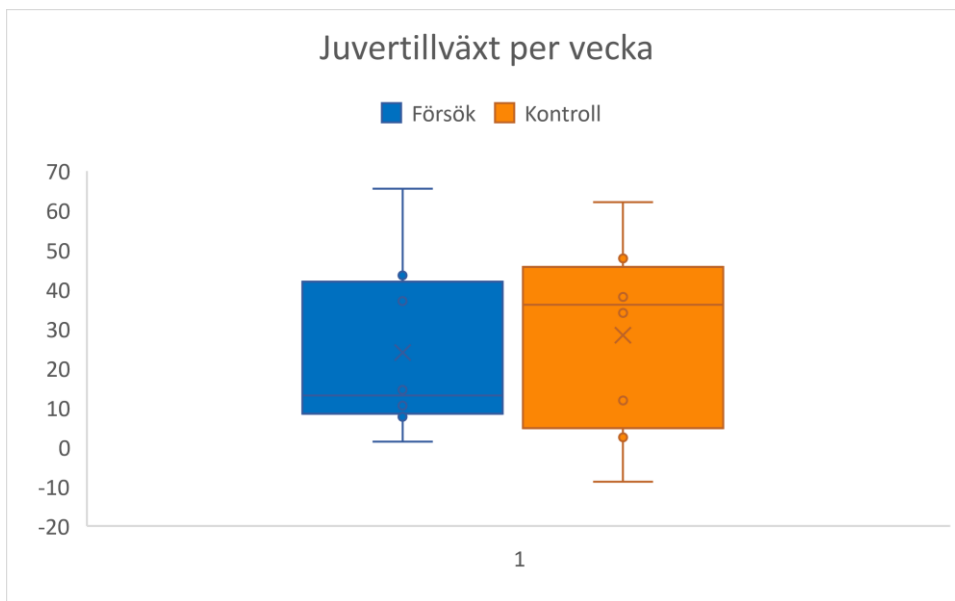
4.2. Juverundersökning

Data från juverundersökningarna visade på en stor variation mellan mätningarna, detta gällde både försöks- och kontrollgrupp (se bilaga 1 för kalvarnas regressionslinjer på juverfjärdel och heljuvernivå). Den summerade juverdatan låg för försökskalvarna vid första mättillfället mellan $62,2 \text{ mm}^2$ – $141,7 \text{ mm}^2$ och för kontrollkalvarna låg värdena mellan $58,54 \text{ mm}^2$ – $158,62 \text{ mm}^2$. Dessa värden ökade till det fjär-



Figur 5. Medelvärde försöks- respektive kontrollgrupp för den summerade juverdatan, enheten är i mm^2 .

de mätningstillfället då försökskalvarna hade värden mellan 98,52-274,21 mm² och kontrollkalvarna hade värden mellan 87,67–311,93 mm². Medelvärdet av försöks- och kontrollgruppens summerade juverkörtelyta visar på en progressiv ökning vecka 1 till vecka 4 för både försöksgruppen och kontrollgruppen (Figur 5). Den skattade veckovisa ökningen av juverkörtelytan varierade mellan 1,41–65,53 mm² för försöksgruppen, och mellan -8,75-62,12 mm² för kontrollgruppen (Figur 6).



Figur 6. Beräknad veckovis förändring av kalvarnas juverkörtelyta under första levnadsmånaden. Juvertillväxten beräknades med linjära regressioner på individnivå. Den blå lådan representerar försökskalvarna och den orangea kontrollkalvarna.

4.2.1. Hypotestestning:

Inga statistiskt signifikanta skillnader i juvertillväxt iaktogs mellan grupperna $t(14) = 0,71$.

4.3. Resultat av vägning

Vid 2-3 veckors ålder vägde kalvarna i försöksgruppen i genomsnitt $57,6 \pm 6,4$ kg och kontrollkalvarna vägde $58,5 \pm 4,95$ kg.

5. Diskussion

5.1. Hullundersökning

Resultatet av Welch's T-test avseende hullutvecklingen gav ett p-värde på 0,61 och det gick därför inte att med statistisk signifikans påvisa någon skillnad mellan grupperna. Det man däremot kan se är att kalvarnas ryggfettstjocklek ökar mellan veckorna eftersom medelvärdet för respektive grupp ökar vecka för vecka, från $2,7 \pm 0,46$ mm till $3,12 \pm 0,42$ mm för försökskalvarna och $2,65 \pm 0,27$ mm till $3,15 \pm 0,41$ mm för kontrollgruppen. Ryggfettstjockleken för en vuxen ko ligger mellan 15-25 millimeter för en ko i medelgott hull, varav 5-6 mm representerar hudens tjocklek (Schröder & Staufenbiel 2006). Kalvarnas ryggfettstjocklek förväntas därmed tillväxa, men det är svårt att uttala sig om kalvarnas ryggfettstjocklek följer en önskvärd tillväxtkurva eller om ökningen beror på ett överskott av energi och därmed en inlagring av fett. I båda grupperna rör det dock sig om små ökningar på ca 0,5 mm på fyra veckor för båda grupperna, och därmed är åtminstone ett kraftigt energiöverskott med fetthinlagring som följd mindre troligt.

I studien av Jasper & Weary (2002) såg man att kalvar med *ad libitum* tillgång på mjölk drack ca 9-10 liter i genomsnitt. Detta kan vara en av anledningarna till att en statistisk signifikans inte ses mellan grupperna, då kontrollkalvarna utfodrades med 9 liter uppdelat på tre mål och därmed fick en genomsnittlig kontrollkalv tillgodosett sitt mjölkbehov, åtminstone enligt Jasper and Wearys (2002) studie. Detta stämmer överens med resultaten i Kenéz *et al.* (2018) studie, där man såg att kalvar som hade fri tillgång på mjölk drack i genomsnitt $9,47 \pm 0,137$ kg mjölk per dag vid 2-27 dagars ålder. Samtidigt noterade Appleby *et al.* (2001) att kalvar under en månads ålder kan dricka så mycket som 16,9 liter på en dag. Kalvarna i studien vägdes inför avhorning i samband med ett annat examensarbete, då de var 2-3 veckor gamla, men ingen större skillnad i vikt noterades mellan grupperna. Detta i kontrast till Flower & Weary (2001), där man såg väldigt positiva effekter av att låta kalven dia från sin mamma. Kalvarna separerades antingen efter 14 dagar eller direkt vid födseln. Under perioden som kalvarna tilläts dia från sin mamma tillväxte de i en betydligt högre hastighet än kalvarna som separerats från modern. De stora resultatskillnaderna beror troligen på att de separerade kalvarna i Flower & Weary (2001) studie erbjöds en mycket lägre mjölmängd per dag än de separerade kalvarna i den här studien.

Mellan mätningar såg man också att för flera kalvar minskade ryggfettstjockleken mellan veckorna och för totalt 3 kalvar minskade ryggfettstjockleken när jämförelse gjordes mellan vecka 1 och vecka 4. Detta kan bero på flera orsaker. Den primära

osäkerheten vid ultraljudsundersökningen bedöms vara operatörens tryck mot proben mot huden. Detta eftersom tryck komprimerar fett och kan därmed ge ett falskt lågt värde (Schröder & Staufenbiel, 2006). En variation i hur hårt operatören trycker kan därför ge stora utslag på resultatet. Utöver detta fick operatören på grund av covid-19 relaterade restriktioner bytas ut vid ett av mättillfällena och det kan därför potentiellt skilja i hur mycket de två operatörerna tryckte proben mot huden vid undersökningen. Med det sagt var båda operatörerna medvetna om denna felkälla och försökte därför trycka enbart så hårt som krävdes för att få en bild av tillräckligt god kvalitet. Dessutom föreligger också en slumpartad teknisk mätosäkerhet med ultraljud som mätmetod. Brethour (1992) undersökte repeterbarheten för ryggfettstjockleken på vuxna nötkreatur mellan två på varandra följande mätningar och såg en genomsnittsnittlig skillnad på ca 0,72 mm. Dock rapporterade Brethour (1992) också om en ökad mätosäkerhet med en ökad ryggfettstjocklek och eftersom kalvarna i vår studie har en väldigt tunn ryggfettstjocklek bör den tekniska mätosäkerheten av detta resultat att döma vara av mindre betydelse. En annan tänkbar anledning till att kalvarnas ryggfettstjocklek minskar kan vara en mobilisering av fettvävnad, isåfall troligen orsakat av sjukdom. Ett examensarbete som utfördes samtidigt på kalvarna undersökte dock sjukdomsfrekvens och där kunde man inte påvisa någon statistiskt signifikant skillnad i sjukdomsförekomst mellan försöks- och kontrollgrupp. Det ska också tilläggas att de negativa skillnaderna var väldigt små, vilket talar mer för en mätosäkerhet troligen primärt orsakat av operatörens tryck mot huden än sjukdom. Oavsett orsak till variationen så var mätvärdena i studien väldigt små på enstaka millimetrar och därför kan en liten variation på bara en tiondels millimeter, om den förekommer frekvent, ha stor påverkan på resultatet.

Skillnaden i ryggfettstjockleken mellan första och sista mätningen var relativt liten med ett genomsnitt på bara ca 0,5 mm för båda grupperna och den oro som ibland uttrycks för att kalvar som får dia fritt blir överviktiga, är inget som resultaten i den här studien tyder på. Detta bör dock utforskas vidare och framförallt följa kalvar under en längre tidsperiod för att fastställa om *ad libitum* digivning kan leda till övervikt senare under uppväxten.

5.2. Juverundersökning

När juvertillväxten jämfördes mellan försöks- och kontrollgrupp kunde ingen skillnad påvisas. Mellan mätningarna sågs en stor variation i juverkörtelns area, men man såg också att medelvärdet av båda gruppernas totala juverkörtelarea ökade vecka för vecka. Frågan är om detta berodde på att operatören blev bättre på att utföra undersökningen och därmed lokaliserade en större del av juvervävnaden eller om juvret faktiskt tillväxte, troligen en kombination. Enligt Akers *et al.* (2005) är

juverkörteln svårupptäckt hos kvigor yngre än 30 dagar på grund av dess ringa storlek. Operatörens ökade erfarenhet var likvärdig mellan grupperna, så oavsett om juvret tillväxte och blev lättare att hitta eller om operatören blev bättre på undersökningen, så fördelades faktorerna lika mellan grupperna.

Hos en kontrollkalv sågs ett stort juverparenkym på vänster bak juverfjärdedel ($87,8 \text{ mm}^2$) redan vid första mätningen. För denna juverfjärdedel sågs en ökning i körtelyta mellan varje mätning, trots byte av operatör vid ett av mättillfällena, och vid sista mätningen mätte juverfjärdedels juverparenkym $129,1 \text{ mm}^2$. Men det förekom också kalvar med en mer oförutsägbart tillväxt och till och med kalvar med negativ tillväxt på juverfjärdedelsdata. Dock hade enbart en kalv en negativ tillväxt av den totala juverkörtelytan under hela studieperioden med en negativ lutning på $(-8,75)$. Negativ tillväxt på juverfjärdedelsnivå mellan undersökningstillfällen sågs oftast på framspenarna. Den operatör som utförde majoriteten av mätningarna upplevde framspenarna som svårare att hitta med ultraljudet, vilket talar för att träning av operatören före försöksstart är essentiellt för att undersökningsmetoden ska fungera tillfredsställande, alternativt enbart mäta de bakre juverdelarna då kalvarna är små. Mätosäkerhet från operatörens sida står troligen för den största felkällan i studien. Det ska dock tilläggas att i de flesta fall tillväxten var negativ rörde det sig om små skillnader. Även om en sann negativ tillväxt är osannolik, kan man ändå anta att dessa juverdelar troligen inte tillväxt i någon större bemärkelse. Alternativt skulle man kunna tänka sig att juverkörteln har blivit svårare att hitta på grund av en fetthinlagring i juvret och att kalvarna därför fått en negativ tillväxt.

Tillvägagångssättet i studien inspirerades av Esselburn *et al.* (2015), där fann man att vid födseln var juverparenkymets storlek ca $6,6 \pm 3,2 \text{ mm}^2$ per körtel, men tillväxte till $42,1 \pm 2,5 \text{ mm}^2$ per körtel vid sista mätningen som utfördes vid 2 månaders ålder. Detta i kontrast till vår studie där resultatet vid första mättillfället gav ett medelvärde på $24,57 \pm 12,57 \text{ mm}^2$. Till skillnad från Esselburn *et al.* (2015) studie som använde en konvex prob med en frekvens på 7,5 Mhz, använde den här studien en linjär prob med 12 Mhz. En högre frekvens lämpar sig för undersökningar på 2-3 cm djup eftersom det ger en bättre upplösning, men har sämre penetration i vävnaden (openanesthesia 2014). Djupet som användes var 2 cm under juverundersökningarna och möjligen att en högre frekvens är bättre vid denna undersökning, då en högre frekvens leder till en bättre bildkvalité och man lättare kan lokalisera juvervävnaden.

Tidigare studier har rapporterat en försämrad tillväxt av körtelparenkym i juvret hos kvigor som fått högre fodergiva (Gardner *et al.* 1977; Sejrsen *et al.* 1982; Van Amburgh *et al.* 1998). Något som skiljer dessa studier från vårt försök är att kvigor började följas först vid 3-7 månaders ålder (Gardner *et al.* 1977; Sejrsen *et al.*

al. 1982; Van Amburgh *et al.* 1998). En faktor som kan ha påverkat resultaten i studierna är om kvigorna studerades vid en viss levandevikt eller ålder. Detta eftersom kvigorna som utfodrats på den frikostiga dieten når målvikten för undersökningstillfället tidigare och därmed är yngre vid analysen. Då juvrets körtelvävnad ökar med stigande ålder är det möjligt att djurens ålder vid undersökningstillfället kan förklara skillnaderna mellan grupperna, men detta undersöktes aldrig. I Meyer *et al.* (2006) inkluderades ålder som kovariat och då sågs ingen statistiskt signifikant skillnad i storleken av juverparenkymet mellan grupperna. Detta överensstämmer med Esselburn *et al.* (2015), Furini *et al.* (2018), och vår studie, som inte heller kunde påvisa skillnader i juverparenkymets tillväxt mellan grupperna.

De studier som rapporterat en försämrad juvertillväxt har framförallt studerat äldre kvigor; Vid studiestart var kvigorna 7-13 månader i Sejrsen *et al.* (1982) studie, Van Amburgh *et al.* (1998) inledde studien då kalvarna vägde 90 kg Gardner *et al.* (1977) inledde då kalvarna vägde 91 kg och Meyer *et al.* (2006) inledde från födseln men analyserade först kalvarna vid 100-350 kg. I samtliga av dessa studier har vikten varit avgörande för när inseminering ska utföras. Detta får konsekvensen att kvigorna som utfodras med den frikostiga dieten i studien är yngre vid inkalvning. En artefakt som Meyer *et al.* (2006) påpekade och när ålder analyserades som en kovariat i deras studie sågs inte längre någon statistisk signifikant skillnad i juverparenkym mellan grupperna (Meyer *et al.* 2006). I den här studien, i Esselburn *et al.* (2015) studie samt i Furini *et al.* (2018) studie analyserades istället juverstorlek baserat på ålder och inte i någon av dessa studier kunde en skillnad påvisas i juvertillväxt mellan behandlingsgrupperna. Det hade därför varit intressant att följa kalvarna en längre tid och fram till vuxen ålder, för att följa både juvertillväxt och mjölkproduktion men baserat på ålder istället för vikt.

En svaghet med studien uppenbarade sig vid analys av bilderna, där det visuellt var tydligt att ultraljudsoperatören behövde mer träning i undersökningsmetoden. Vid starten av studien valdes fyra ”test”-kalvar ut för att lära sig undersökningsmetodiken före studiestart. Eftersom en del bilder var oskarpa och flera kalvar hade en negativ tillväxt mellan mättillfällena, tyder detta på att de fyra testkalvarna som användes inte var tillräckligt för att förbereda operatörerna inför studien. Studien skulle dock utföras inom en begränsad tid och möjligheten för någon längre träning fanns därför inte. Om studien upprepas är det dock fördelaktigt om operatören får en längre träning före studiens påbörjande för att säkerställa kvalitén av bilderna även i studiens startskede. Undersökningsmetodiken var dessutom mycket tidskrävande och flera medhjälpare krävdes för att utföra undersökningen. Upplägget av studien kan därför ses över inför en eventuell upprepning, till exempel ultraljudades kalvarna varje vecka, men det kanske räcker att mäta varannan vecka för att minska arbetsbördan och istället fokusera på kvalitet. En annan förbättring kan vara att spara

videosekvenser istället för bara en bild, på så sätt kan man lättare fånga upp en bild av god kvalitet i efterhand. Detta blir dock tidskrävande vid bearbetningen av data. En del felkällor är dock svåra att göra något åt exempelvis var det tvunget att manuellt hålla kalvarna liggandes på sidan, vilket gjorde att undersökningen påskyndades vid en del tillfällen eftersom kalvarna försökte bryta sig loss.

Avslutningsvis gick det inte att påvisa någon skillnad mellan kalvarna avseende juvertillväxt, men det hade varit önskvärt att i en framtida studie följa kalvarna under en längre tidsperiod för att se om *ad libitum* digivning kan ha negativa effekter för juvertillväxter senare under uppväxten.

Referenser

- Akers, R.M., Ellis, S.E., Berry, S.D., 2005. Ovarian and IGF-I axis control of mammary development in prepubertal heifers. *Domestic Animal Endocrinology*. Farm Animal Endocrinology Special Issue Part 2, 29, 259–267. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.037>
- Appleby, M.C., Weary, D.M., Chua, B., 2001. Performance and feeding behaviour of calves on ad libitum milk from artificial teats. *Applied Animal Behaviour Science*. 74, 191–201. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(01\)00171-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(01)00171-X)
- Bazeley, K.J., Barrett, D.C., Williams, P.D., Reyher, K.K., 2016. Measuring the growth rate of UK dairy heifers to improve future productivity. *The Veterinary Journal*. 212, 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.10.043>
- Beaver, A., Meagher, R.K., Keyserlingk, M.A.G. von, Weary, D.M., 2019. Invited review: A systematic review of the effects of early separation on dairy cow and calf health. *Journal of Dairy Science*. 102, 5784–5810. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15603>
- Brethour, J.R., 1992. The repeatability and accuracy of ultrasound in measuring backfat of cattle. *Journal of Animal Science*. 70, 1039–1044. <https://doi.org/10.2527/1992.7041039x>
- de Passillé, A.M., 2001. Sucking motivation and related problems in calves. *Applied Animal Behaviour Science*. Special issue: Suckling, 72, 175–187. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(01\)00108-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(01)00108-3)
- De Paula Vieira, A., von Keyserlingk, M.A.G., Weary, D.M., 2010. Effects of pair versus single housing on performance and behavior of dairy calves before and after weaning from milk. *Journal of Dairy Science*. 93, 3079–3085. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2516>
- Domecq, J.J., Skidmore, A.L., Lloyd, J.W., Kaneene, J.B., 1995. Validation of Body Condition scores with ultrasound measurements of subcutaneous fat of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 78, 2308–2313. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76857-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76857-6)
- Edwards, S.A., Broom, D.M., 1982. Behavioural interactions of dairy cows with their newborn calves and the effects of parity. *Animal Behaviour*. 30, 525–535. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(82\)80065-1](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(82)80065-1)
- Esselburn, K.M., Hill, T.M., Bateman, H.G., Fluharty, F.L., Moeller, S.J., O'Diam, K.M., Daniels, K.M., 2015. Examination of weekly mammary parenchymal area by ultrasound, mammary mass, and composition in Holstein heifers reared on 1 of 3 diets from birth to 2 months of age. *Journal of Dairy Science*. 98, 5280–5293. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9061>
- Ferguson, J.D., Galligan, D.T., Thomsen, N., 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 77, 2695–2703. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77212-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77212-X)
- Flower, F.C., Weary, D.M., 2001. Effects of early separation on the dairy cow and calf: 2. Separation at 1 day and 2 weeks after birth. *Applied Animal Behaviour Science*. 70, 275–284. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(00\)00164-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(00)00164-7)

- Furini, P.M., Azevedo, R.A., Rufino, S.R.A., Machado, F.S., Campos, M.M., Pereira, L.G.R., Tomich, T.R., Carvalho, B.C., Santos, G.B., Coelho, S.G., 2018. The effects of increasing amounts of milk replacer powder added to whole milk on mammary gland measurements using ultrasound in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*. 101, 767–773. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12798>
- Gardner, R.W., Schuh, J.D., Vargus, L.G., 1977. Accelerated growth and early breeding of Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*. 60, 1941–1948. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(77\)84126-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(77)84126-X)
- Greiner, S.P., Rouse, G.H., Wilson, D.E., Cundiff, L.V., Wheeler, T.L., 2003. The relationship between ultrasound measurements and carcass fat thickness and longissimus muscle area in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 81, 676–682. <https://doi.org/10.2527/2003.813676x>
- Gård & Djurhalsan. 2014. *Optimera mjölkutfodringen - för bäst hälsa och tillväxt!* <https://www.gardochdjurhalsan.se/optimera-mjolkutfodringen/> (accessed 11.16.20).
- Hall, S.J.G., 1989. Chillingham cattle: social and maintenance behaviour in an ungulate that breeds all year round. *Animal Behaviour*. 38, 215–225. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(89\)80084-3](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(89)80084-3)
- Hall, S.J.G., 1982. The chillingham herd of wild white cattle. *Applied Animal Ethology*. 9, 96–97. [https://doi.org/10.1016/0304-3762\(82\)90181-X](https://doi.org/10.1016/0304-3762(82)90181-X)
- Heinrichs, A.J., Rogers, G.W., Cooper, J.B., 1992. Predicting body weight and wither height in Holstein heifers using body measurements. *Journal of Dairy Science*. 75, 3576–3581. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78134-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78134-X)
- Hessle, A., Nadeau, E., Svensson, C., 2004. Feeding dairy calves and replacement heifers in South-western Sweden: a survey. *Acta Agriculturae Scandinavica Section A - Animal Science*. 54, 94–102. <https://doi.org/10.1080/09064700410032013>
- Hudson, S.J., Mullord, M.M., 1977. Investigations of maternal bonding in dairy cattle. *Applied Animal Ethology*. 3, 271–276. [https://doi.org/10.1016/0304-3762\(77\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0304-3762(77)90008-6)
- Jasper, J., Weary, D.M., 2002. Effects of ad libitum milk intake on dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 85, 3054–3058. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74391-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74391-9)
- Jung, J., Lidfors, L., 2001. Effects of amount of milk, milk flow and access to a rubber teat on cross-sucking and non-nutritive sucking in dairy calves. *Applied Animal Behaviour Science*. Special Issue: Suckling, 72, 201–213. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(01\)00110-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(01)00110-1)
- Kalvportalen, 2019. *Tillväxt och vägning*. <http://kalvportalen.se/skoetsel/tillvaext-hull-bedoemning/tillvaext-och-vaegning/> (accessed 10.23.20).
- Kenéz, Á., Koch, C., Korst, M., Kesser, J., Eder, K., Sauerwein, H., Huber, K., 2018. Different milk feeding intensities during the first 4 weeks of rearing dairy calves: Part 3: Plasma metabolomics analysis reveals long-term metabolic imprinting in Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*. 101, 8446–8460. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14559>
- Khan, M.A., Lee, H.J., Lee, W.S., Kim, H.S., Ki, K.S., Hur, T.Y., Suh, G.H., Kang, S.J., Choi, Y.J., 2007. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune responses of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. *Journal of Dairy Science*. 90, 3376–3387. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0104>

- Khan, M.A., Weary, D.M., von Keyserlingk, M.A.G., 2011. Invited review: Effects of milk ration on solid feed intake, weaning, and performance in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*. 94, 1071–1081. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3733>
- Kristensen, E., Dueholm, L., Vink, D., Andersen, J.E., Jakobsen, E.B., Illum-Nielsen, S., Petersen, F.A., Enevoldsen, C., 2006. Within- and across-person uniformity of body condition scoring in Danish Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. 89, 3721–3728. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72413-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72413-4)
- Krohn, C.C., Foldager, J., Mogensen, L., 1999. Long-term effect of colostrum feeding methods on behaviour in female dairy calves. *Acta Agriculturae Scandinavica Section A - Animal Science*. 49, 57–64. <https://doi.org/10.1080/090647099421540>
- Larson, L.L., Owen, F.G., Albright, J.L., Appleman, R.D., Lamb, R.C., Muller, L.D., 1977. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *Journal of Dairy Science*. 60, 989–991. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(77\)83975-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(77)83975-1)
- Lupoli, B., Johansson, B., Uvnäs-Moberg, K., Svennersten-Sjaunja, K., 2001. Effect of suckling on the release of oxytocin, prolactin, cortisol, gastrin, cholecystokinin, somatostatin and insulin in dairy cows and their calves. *Journal of Dairy Research*. 68, 175–187. <https://doi.org/10.1017/S0022029901004721>
- Martin, P., 1984. The meaning of weaning. *Animal Behaviour*. 32, 1257–1259. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(84\)80245-6](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(84)80245-6)
- Meyer, M.J., Capuco, A.V., Ross, D.A., Lintault, L.M., Van Amburgh, M.E., 2006. Developmental and nutritional regulation of the prepubertal heifer mammary gland: I. Parenchyma and fat pad mass and composition. *Journal of Dairy Science*. 89, 4289–4297. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72475-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72475-4)
- Nishimura, M., Yoshida, T., El-Khodery, S., Miyoshi, M., Furuoka, H., Yasuda, J., Miyahara, K., 2011. Ultrasound imaging of mammary glands in dairy heifers at different stages of growth. *Journal of Veterinary Medical Science*. 73, 19–24. <https://doi.org/10.1292/jvms.09-0503>
- OpenAnesthesia, 2014. *Significance of U/S probe frequency*. https://www.openanesthesia.org/s_probe_frequency/ (accessed 12.6.20).
- Reinhardt, V., Reinhardt, A., 1981. Natural sucking performance and age of weaning in zebu cattle (*Bos indicus*). *The Journal of Agricultural Science*. 96, 309–312. <https://doi.org/10.1017/S0021859600066089>
- Roche, J.R., Friggens, N.C., Kay, J.K., Fisher, M.W., Stafford, K.J., Berry, D.P., 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*. 92, 5769–5801. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2431>
- Schröder, U.J., Staufenbiel, R., 2006. Invited Review: Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of back-fat thickness. *Journal of Dairy Science*. 89, 1–14. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72064-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72064-1)
- Sejrsen, K., Huber, J.T., Tucker, H.A., Akers, R.M., 1982. Influence of nutrition on mammary development in pre- and postpubertal heifers. *Journal of Dairy Science*. 65, 793–800. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82268-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82268-6)

- Suárez, B.J., Van Reenen, C.G., Beldman, G., van Delen, J., Dijkstra, J., Gerrits, W.J.J., 2006. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: I. Animal performance and rumen fermentation characteristics. *Journal of Dairy Science*. 89, 4365–4375. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72483-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72483-3)
- Van Amburgh, M.E., Galton, D.M., Bauman, D.E., Everett, R.W., Fox, D.G., Chase, L.E., Erb, H.N., 1998. Effects of three prepubertal body growth rates on performance of Holstein heifers during first lactation. *Journal of Dairy Science*. 81, 527–538. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75604-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75604-8)
- von Keyserlingk, M.A.G., Brusius, L., Weary, D.M., 2004. Competition for teats and feeding behavior by group-housed dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 87, 4190–4194. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73563-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73563-8)
- Wagner, K., Seitner, D., Barth, K., Palme, R., Futschik, A., Waiblinger, S., 2015. Effects of mother versus artificial rearing during the first 12 weeks of life on challenge responses of dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*. 164, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.12.010>
- Wormsbecher, L., Bergeron, R., Haley, D., de Passillé, A.M., Rushen, J., Vasseur, E., 2017. A method of outdoor housing dairy calves in pairs using individual calf hutches. *Journal of Dairy Science*. 100, 7493–7506. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12559>

Tack

Jag vill rikta ett stort tack till min handledare Hanna Eriksson för all den hjälp jag fått under arbetets gång. Jag vill också tacka Malin Hellström och Gunilla Helmersson för all hjälp vid insamling av data. Sist men inte minst vill jag också rikta ett tack till de andra exjobbarna inom ko-kalvprojektet Rebekka Bakke och Rebecka Lindqvist för både praktisk hjälp vid insamling av data men även för bollande av idéer.

Populärvetenskaplig sammanfattning

I dagens mjölkproduktion separeras kalven från sin mamma, vanligen inom 24 timmar efter födseln. Anledningen till detta är dels ekonomisk på grund av att mer mjölk från kon kan säljas till butiker, dels etisk eftersom detta tros förhindra bildandet av en stark relation mellan kon och hennes kalv. Tidigare forskning har däremot visat på flera positiva effekter av att låta kalven och kon gå tillsammans en längre tid, bland annat att kalvar som tillåts dia från sin mamma växer bättre. Samtidigt har annan forskning visat att kalvar som tillväxt i en hög hastighet producerat mindre mjölk som vuxna mjölkkor. Detta tros bero på att om kalvarna överutfodras kan en fettinlagring i juvret uppstå, vilken minskar tillväxten av mjölkproducerande körtelvävnad. I denna studie undersökte vi om kalvar som tillåts dia från sin mamma överutfodrades genom att undersöka om mängden underhudsfett skiljde sig från kalvar som växte upp utan sin mamma. Dessutom undersöktes om tillväxten av mjölkproducerande vävnad skiljde sig åt mellan grupperna.

Genomförandet av studien:

Studien utfördes på Sveriges lantbruksuniversitets forskningscentrum för lantbrukens djur och omfattade totalt 34 kalvar, där 17 av kalvarna växte upp inne i mjölkstallet tillsammans med sin mamma och med andra mjölkkor och deras kalvar. De resterande 17 kalvarna växte upp i grupp, med minst två men max fem kalvar per grupp och varje kalv tilldelades 9 liter mjölk om dagen ur en napphink uppdelat på tre mål. Kalvarna följdes den första månaden i livet och undersöktes en gång i veckan. Undersökningen utfördes med hjälp av ett ultraljud, eftersom tidigare forskning har visat att ultraljud är en effektiv metod för att uppskatta underhudsfett. Dessutom har ny forskning visat att även den mjölkproducerande vävnaden i juvret kan undersökas med hjälp av ett ultraljud. Samtliga kalvar undersöktes avseende underhudsfettet, medan 8 kvigkalvar i vardera gruppen (totalt 16) även undersöktes avseende tillväxten av den mjölkproducerande vävnaden i juvret. Vid undersökning av underhudsfettet placerades ultraljudsproben på kalvens rumpa och en bild togs som sparades för senare analys. För undersökningen av juvret togs en bild per juverfjärdedel och sparades. När alla bilder var tagna mättes kalvarnas underhudsfett i millimeter med hjälp av ultraljudets inbyggda mätfunktion och den mjölkproducerande vävnaden i juvret räknades ut i kvadratmillimeter på en stationär dator.

Resultatet av studien ger mersmak för framtida forskning:

Resultaten mellan de två grupperna jämfördes och ingen skillnad kunde påvisas gällande både underhudsfettet och juvervävnaden. För att kunna fastställa om kalvar som går tillsammans med sina mammor har en tendens till att bli överviktiga och på så sätt få en försämrad mjölkproduktion som vuxna krävs mer forskning. Det man dock kan säga är att tidigare studier som sett samband mellan hög tillväxthastighet och låg mjölkproduktion som vuxna har undersökningen av djuren skett vid en viss vikt och inte vid faktisk ålder. Detta innebär att djuren som tillväxt fortare har varit yngre när de fött sin första kalv och börjat producera mjölk. Detta kan vara en anledning till att dessa djur mjölkat mindre, för att de helt enkelt varit yngre och inte haft lika lång tid på sig att utvecklas. Detta problem har belysts även av andra forskare och framtida studier där undersökningarna sker vid en viss ålder istället för vid en viss vikt hade därför varit intressant. Detta kan vara en av anledningarna till att inga skillnader gick att påvisa mellan grupperna i vår studie avseende juvertillväxt, eftersom djuren undersöktes baserat på ålder och inte vikt.

Gällande underhudsfettet har resultat från tidigare studier visat att kalvar under en månads ålder kan dricka uppemot 16 liter per dag, men som genomsnitt ca 10 liter mjölk om dagen när de själva får bestämma. Kalvarna som skiljdes åt från sin mamma fick i vår studie 9 liter mjölk om dagen, vilket kan vara en av anledningarna till att stora skillnader i underhudsfett inte kunde påvisas mellan grupperna, då det kan antas att de dricker ungefär lika mycket i båda grupperna. När kalvarna växer och blir äldre är ett rimligt antagande att kalvarna som går tillsammans med sin mamma ökar sin konsumtion av mjölk, detta har kalvarna som skiljts från mamman inte möjlighet till då de under den här studien utfodrades med samma mjölmängd varje dag. Det hade därför varit intressant att följa kalvarna över en längre tid för att se om övervikt går att påvisa senare under uppväxten.

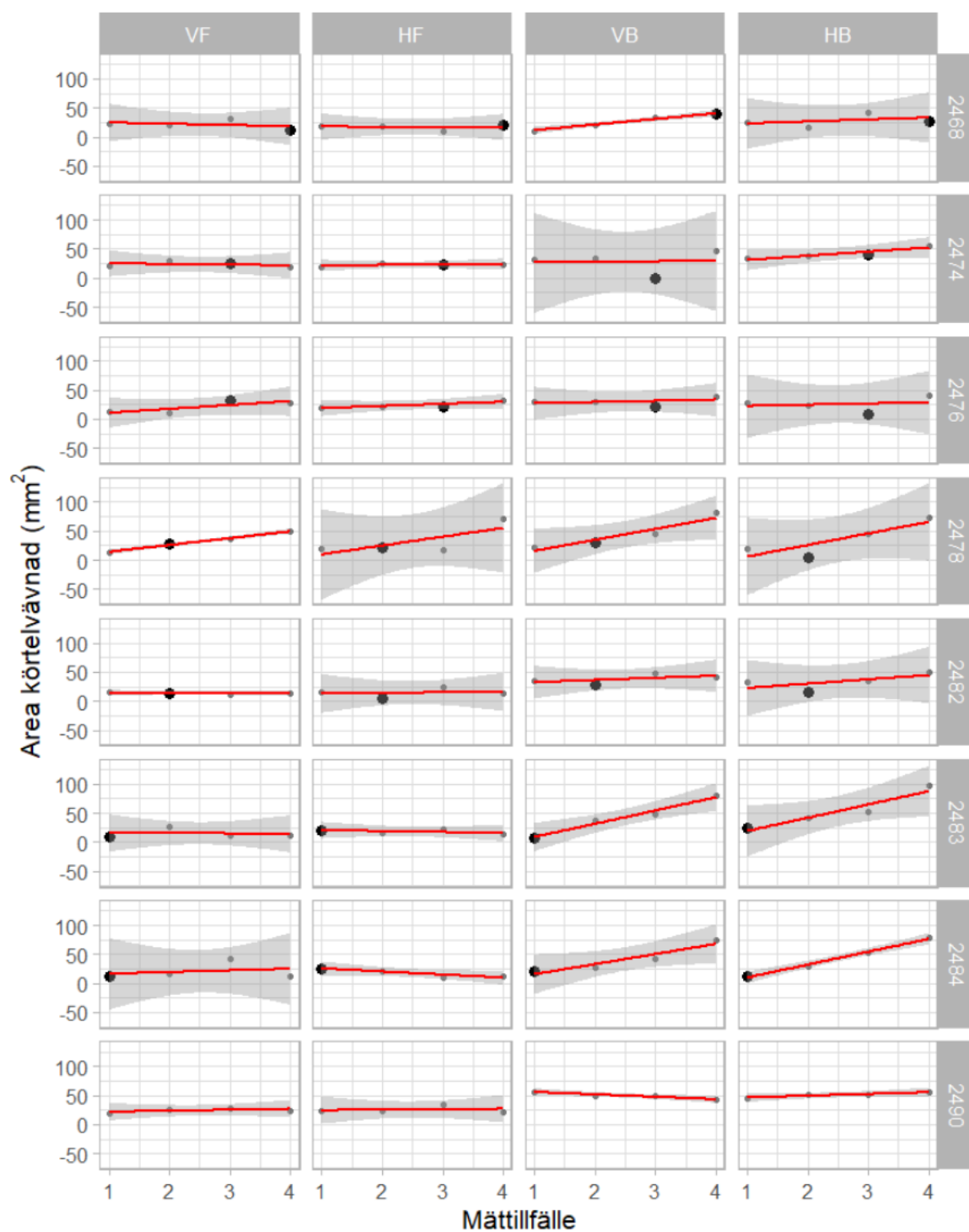
Bilaga 1

Linjära regressioner för juverfjärdedelar – försökskalvar:

Röd linje: Linjen av den uppskattade tillväxten av varje juverfjärdedels körtel för varje försökskalv.

Grått område: 95 % konfidensintervall.

Liten prick: operatör 1 (ordinarie), stor prick: operatör 2.

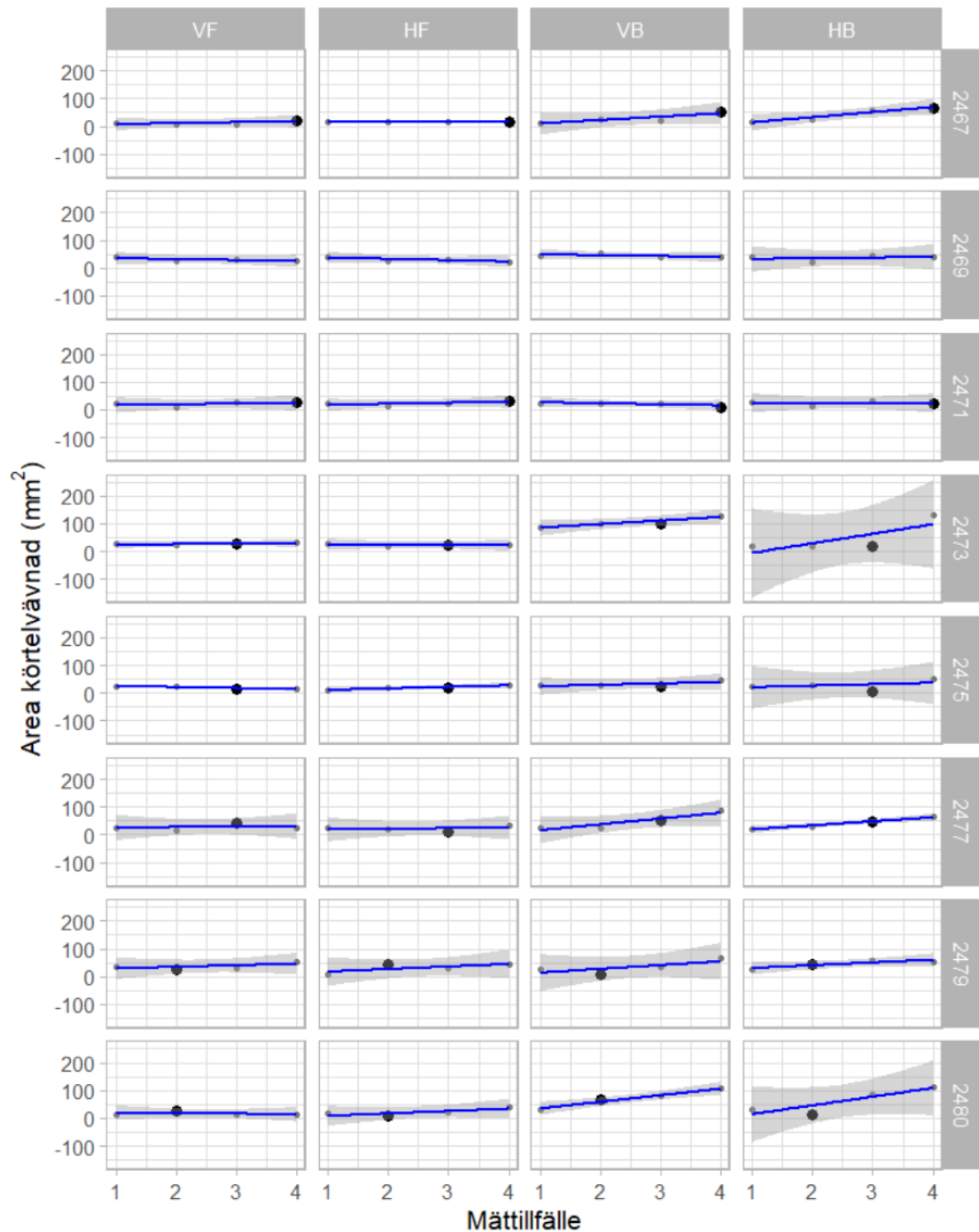


Linjära regressioner för juverfjärdedelar – Kontrollkalvar:

Blå linje: Linjen av den uppskattade tillväxten av varje juverfjärdedels körtel för varje kontrollkalv.

Grått område: 95 % konfidensintervall.

Liten prick: operatör 1 (ordinarie), stor prick: operatör 2.



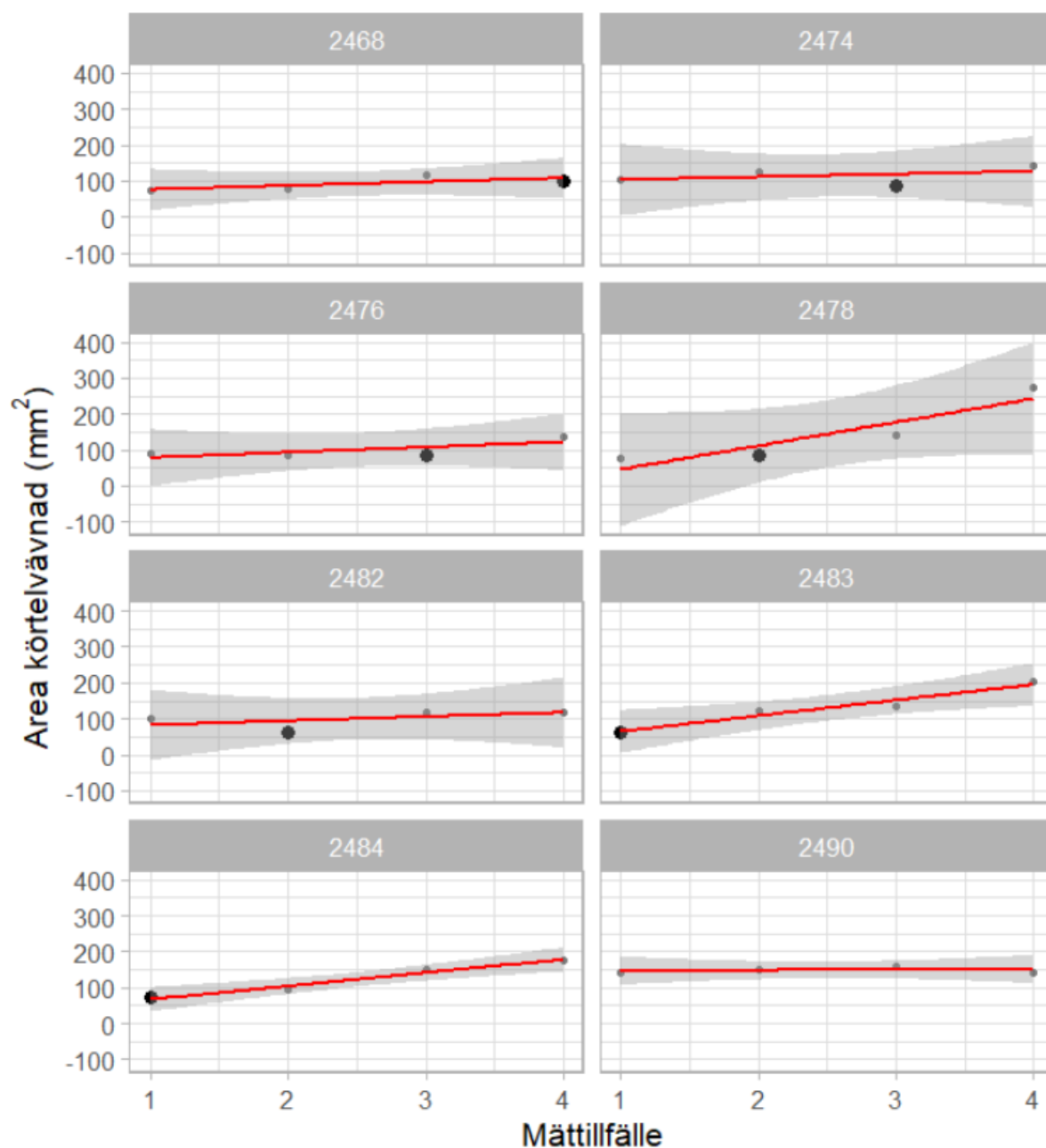
Bilaga 2

Linjär regression för heljuver – försökskalvar:

Röd linje: Linjen av den uppskattade tillväxten av hela juvrets körtelvävnad vecka för vecka (de summerade juverfjärdedelarna).

Grått område: 95 % konfidensintervall.

Liten prick: operatör 1 (ordinarie), stor prick: operatör 2.

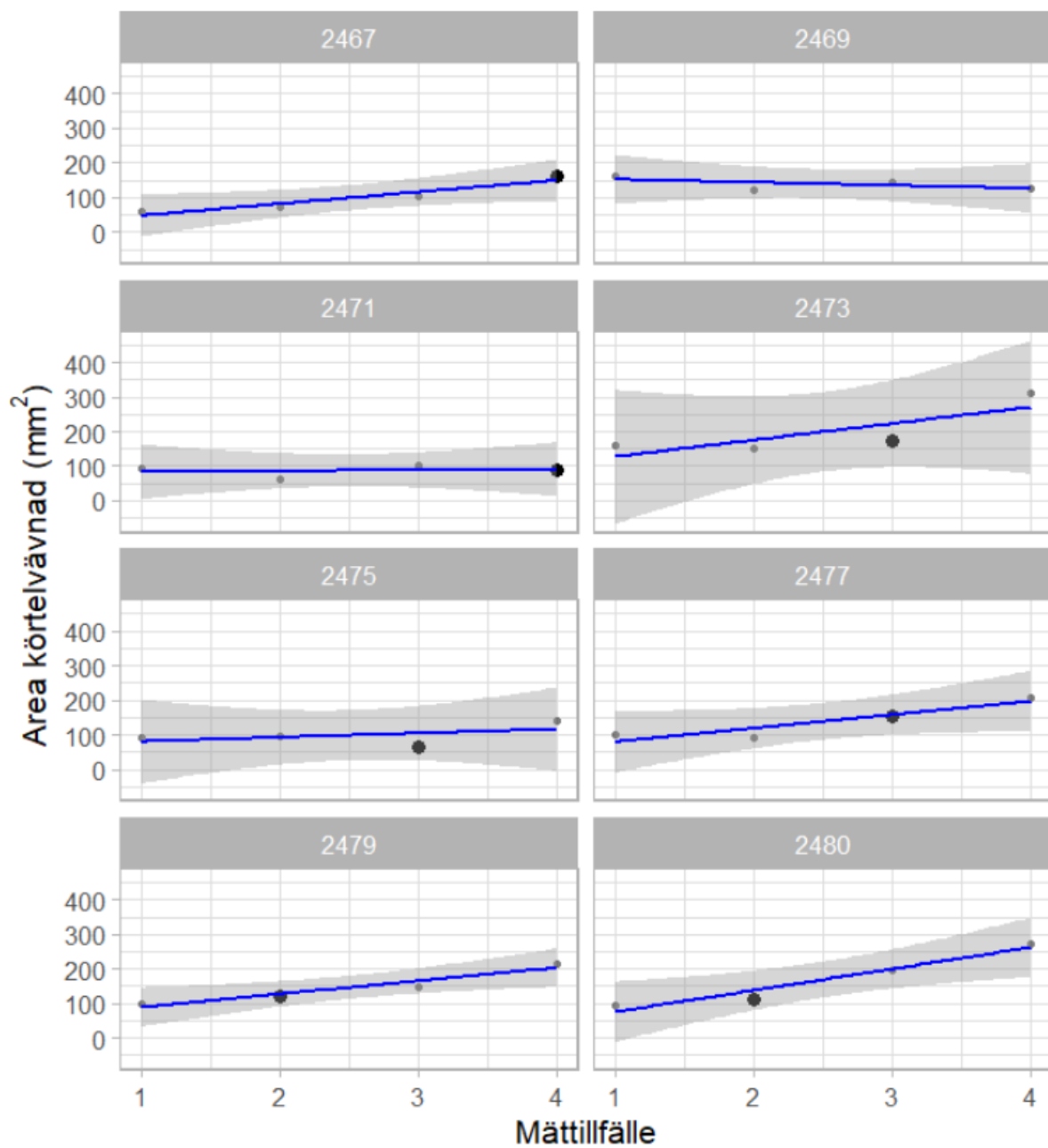


Linjär regression för heljuver – kontrollkalvar:

Blå linje: Linjen av den uppskattade tillväxten av hela juvrets körtelvävnad vecka för vecka (de summerade juverfjärdedelarna).

Grått område: 95 % konfidensintervall.

Liten prick: operatör 1 (ordinarie), stor prick: operatör 2.



Bilaga 3

Script för uträkning av de linjära regressionslinjerna.

```
R version 4.0.0 (2020-04-24) "Arbor Day"
library("tidyverse")

### +++ Load data sets +++ ###
quarter <- read.csv2("UL_quarter_EB_2020_11_30.csv")

# Set factor levels for udder quarter
quarter$quarter <- factor(quarter$quarter, levels = c("VF", "HF", "VB", "HB"))

# Split data set per trt ####
quarter_trt <- filter(quarter, group == "trt")
quarter_con <- filter(quarter, group == "con")

### Plots udder quarters ###
p1_trt <- ggplot(quarter_trt, aes(x = occasion, y = quarter_area_mm2)) +
  geom_point(shape = 16, alpha = if_else(quarter_trt$observer == "he", 1, 0.5),
    size = if_else(quarter_trt$observer == "he", 3, 1.5)) +
  geom_smooth(method = lm, colour = "red", size = 0.8) +
  labs(x = "Mättillfälle",
    y = expression(paste("Area körtelvävnad ( ", mm^{2}, ")"))) +
  facet_grid(calfID ~ quarter) +
  theme_light(base_size = 16) +
  theme(axis.text = element_text(size = 12))
p1_trt

p1_con <- ggplot(quarter_con, aes(x = occasion, y = quarter_area_mm2)) +
  geom_point(shape = 16, alpha = if_else(quarter_con$observer == "he", 1, 0.5),
    size = if_else(quarter_con$observer == "he", 3, 1.5)) +
  geom_smooth(method = lm, colour = "blue", size = 0.8) +
  labs(x = "Mättillfälle",
    y = expression(paste("Area körtelvävnad ( ", mm^{2}, ")"))) +
  facet_grid(calfID ~ quarter) +
  theme_light(base_size = 16) +
  theme(axis.text = element_text(size = 12))
p1_con

### Plots whole udder ###

# Adding udder area for all quarters per occasion
udder <- quarter %>%
  group_by(calfID, occasion) %>%
  summarise(code = first(code),
    group = first(group),
    date = first(date),
    observer = first(observer),
    udder_area_mm2 = sum(quarter_area_mm2)) %>%
  ungroup()

# Split data set per trt ####
udder_trt <- filter(udder, group == "trt")
udder_con <- filter(udder, group == "con")

### Plots ###
p1_trt_u <- ggplot(udder_trt, aes(x = occasion, y = udder_area_mm2)) +
  geom_point(shape = 16, alpha = if_else(udder_trt$observer == "he", 1, 0.5),
    size = if_else(udder_trt$observer == "he", 3, 1.5)) +
  geom_smooth(method = lm, colour = "red", size = 0.8) +
  labs(x = "Mättillfälle",
    y = expression(paste("Area körtelvävnad ( ", mm^{2}, ")"))) +
  facet_wrap(~ calfID, ncol = 2) +
  theme_light(base_size = 16) +
  theme(axis.text = element_text(size = 12))
p1_trt_u

p1_con_u <- ggplot(udder_con, aes(x = occasion, y = udder_area_mm2)) +
  geom_point(shape = 16, alpha = if_else(udder_con$observer == "he", 1, 0.5),
    size = if_else(udder_con$observer == "he", 3, 1.5)) +
  geom_smooth(method = lm, colour = "blue", size = 0.8) +
  labs(x = "Mättillfälle",
    y = expression(paste("Area körtelvävnad ( ", mm^{2}, ")"))) +
```

```

    facet_wrap(~ calfID, ncol = 2) +
    theme_light(base_size = 16) +
    theme(axis.text = element_text(size = 12))
pl_con_u

### Calculate ab-lines ###
# Split data set by calf and fit one linear model per calf to
# obtain coefficients for analysis
for (i in unique(udder$calfID) ){
  #create a subset data
  data_sub <- subset(udder, calfID == i)

  #Note1: Create the linear model. If it is the first loop, then the model name will
  be lm2467
  assign(paste("lm",i,sep = ""), lm(udder_area_mm2 ~ occasion, data = data_sub))
}

```